



**HAL**  
open science

# Adsorption des perturbateurs endocriniens lors de la potabilisation : Développement d'une méthodologie d'obtention des paramètres d'équilibre et cinétiques

Azziz Assoumani

## ► To cite this version:

Azziz Assoumani. Adsorption des perturbateurs endocriniens lors de la potabilisation : Développement d'une méthodologie d'obtention des paramètres d'équilibre et cinétiques. Chimie analytique. Université de Rennes 1, 2009. Français. NNT : . tel-02915048

**HAL Id: tel-02915048**

**<https://univ-rennes.hal.science/tel-02915048>**

Submitted on 13 Aug 2020

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



**THÈSE / UNIVERSITÉ DE RENNES 1**  
*sous le sceau de l'Université Européenne de Bretagne*

pour le grade de  
**DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE RENNES 1**  
*Mention : Chimie*

**Ecole doctorale Sciences de la Matière**

présentée par

**Azziz Assoumani**

préparée à l'Unité Mixte de Recherche CNRS 6226  
Laboratoire Sciences Chimiques de Rennes  
Equipe Chimie et Ingénierie des Procédés  
Ecole Nationale Supérieure de Chimie de Rennes

---

**Adsorption des perturbateurs endocriniens lors de la potabilisation : Développement d'une méthodologie d'obtention des paramètres d'équilibre et cinétiques.**

**Thèse soutenue à Rennes le 9 Décembre 2009**

devant le jury composé de :

**Michel BAUDU**

Professeur à l'Université de Limoges / *rapporteur*

**Patrick MAZELLIER**

Professeur à l'Université de Bordeaux / *rapporteur*

**Céline HELEN**

Responsable Développement à la Société de Diagnostic Air Eau / *examinatrice*

**Anthony SZYMCZYK**

Professeur à l'Université de Rennes 1 / *examineur*

**Lidia FAVIER**

Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Supérieure de Chimie de Rennes / *co-directrice de Thèse*

**Dominique WOLBERT**

Professeur à l'Ecole Nationale Supérieure de Chimie de Rennes / *directeur de Thèse*



On dit qu'on apprend avec ses erreurs, mais à mon avis c'est une erreur... et si je me trompe au moins j'aurais appris quelque chose !  
*Philippe Geluck*



# REMERCIEMENTS

---

En premier lieu, je remercie vivement les Professeurs Plusquellec et Le Cloirec, directeurs successifs de l'Ecole Nationale Supérieure de Chimie de Rennes, et le Professeur Dominique Wolbert, directeur de l'équipe Chimie et Ingénierie des Procédés, de m'avoir accueilli au laboratoire et permis de réaliser ces trois années de doctorat.

J'adresse également toute ma reconnaissance aux membres du jury, qui ont accepté de considérer ce travail de recherche. Je remercie les Professeurs Michel Baudu et Patrick Mazellier qui ont accepté d'en être les rapporteurs et d'en évaluer la qualité. Je souhaite également remercier Madame Céline Helen et le Professeur Anthony Sczymczyk d'avoir endossé et pris à cœur leur rôle d'examineur.

Je tiens à exprimer toute ma gratitude envers Monsieur Dominique Wolbert, mon directeur de thèse, pour son encadrement scientifique de grande qualité. Ses connaissances aussi bien théoriques que pratiques dans de multiples domaines, nos discussions plus enrichissantes les unes que les autres, son esprit critique en constante ébullition et sa quotidienne disponibilité tiennent sans aucun doute une part importante dans l'accomplissement ce travail.

Que Madame Lidia Favier, co-directrice de thèse, soit également assurée de ma profonde reconnaissance quant à son implication dans ces trois années de travail. Je lui suis reconnaissant de la confiance qu'elle m'a accordée et des conseils qu'elle a su me donner pour mener à bien cette étude.

Mes remerciements sont également destinés Madame Céline Helen, de la Société de Diagnostic Air Eau, pour sa confiance et nos discussions intéressantes durant le partage de l'utilisation du chromatographe liquide (UPLC-MS/MS).

Je tiens à saluer ici le soutien de Madame Valérie Chrétien, qui a grandement facilité l'aspect administratif de mes trois années passées au sein du laboratoire. De même, Madame Isabelle Soutrel et Mademoiselle Emilie Renault, pour le côté analyse, et Monsieur Pascal Lapierre, pour le côté génie des procédés, m'ont apporté un soutien technique d'une grande importance. Je leur suis à tous les quatre très reconnaissant.

Cette étude n'aurait pas été ce qu'elle est sans l'aide et l'active implication des deux stagiaires avec qui j'ai eu le plaisir de travailler, Mesdemoiselles Eva Rossignol et Justine Jouët. Je souhaite les remercier et les féliciter pour le travail qu'elles ont fourni sans compter leurs heures de présence au laboratoire et en supportant mes jeux de mots de piètre qualité parfois.

J'ai passé trois années dans un laboratoire à l'ambiance générale très agréable où j'ai vite été intégré par mes collègues de travail. Je n'oublierai jamais mon séjour au labo CIP et j'aimerais remercier tous les acteurs de cette partie de ma vie, aussi bien les personnels permanents que non-permanents. Je garde un excellent souvenir des moments passés avec un grand nombre d'entre eux. Particulièrement, Ma Sousou et son légendaire système d'isolation phonique qu'on a parfois réussi à mettre en défaut ; Mon P-F, pour notre magic Face To Face dans le bureau 1.18 et son talent inégalé pour les parodies musicales et les devinettes les plus fines ; Mes coloc' membres du SDD, alias Mon Ben et Mon Pôpa (collègue de la team d'analyse de traces du CIP), pour ces moments de rires inoubliables et ce nouveau vocabulaire, pièce principale des

tests d'efficacité du « mode Sousou » ; Valérie, a.k.a. Maman Travail, pour sa bonne humeur, sa patience et l'amour qu'elle nous donnait quotidiennement. Je pense également à Nolwenn qui a beaucoup contribué à l'atmosphère burlesque qu'il existait entre nous tous ; à Pierrot, s'il n'est pas que trompettiste, il ne veut pas sa poire ; à Aurélie, Emilie, Ludo, Ronan, Nico, Derradji et Abdellah qui ont déjà quitté le laboratoire ; à Isabelle, Hayat, Anissa, Minh Duc, Guillaume et Thomas (qui dit vert) encore présents et qui garderont assurément cette bonne attente avec les nouveaux entrants notamment Justine, Sylvain, Samuel, Aymen et Benoît.

Je n'oublie pas les personnes qui n'étaient dans les murs du laboratoire mais qui contribuent largement à mon souvenir très positif de mon doctorat à l'École. Je pense à Aurélien, qui fait presque partie de l'équipe CIP ; aux filles de là haut : Alicia et ses plans concerts, Julie la Bête, Virginie tout en feutrine, Adeline et Pauline ; au gars d'en bas : Thomas, Eti et Gaga.

J'adresse également une pensée à toute l'équipe de la Classique qui me manque déjà et particulièrement à ceux n'ont pas été cités dans les quelques lignes précédentes.

Enfin, je remercie très chaleureusement ma mère, Moïnaëcha, mon père, Mohamed, mes sœurs Fouad et Faouzia, et mon frère, Assad, pour leurs encouragements constants, leur gentillesse, et leur compréhension vis-à-vis de mes rares visites durant ces trois années. Vous êtes une force qui m'a été indispensable à la réalisation de ce travail, pour cela merci. Ce manuscrit vous est dédié.

# TABLE DES MATIERES

---

<b>INTRODUCTION GENERALE .....</b>	<b>1</b>
<b>CHAPITRE I : BIBLIOGRAPHIE .....</b>	<b>4</b>
<b>I. LES PERTURBATEURS ENDOCRINIENS .....</b>	<b>4</b>
I.1. GENERALITES.....	4
I.1.1. DEFINITIONS .....	4
I.1.2. CLASSE DE PERTURBATEURS ENDOCRINIENS. ....	4
I.1.3. LES EFFETS PERTURBATEURS ENDOCRINIENS.....	6
I.1.3.1. Effets sur les animaux .....	6
I.1.3.2. Effets sur l'Homme .....	8
I.1.4. STRATEGIES D'ACTION MONDIALE, EUROPEENNE ET NATIONALES.....	9
I.2. ORIGINE ET OCCURRENCE.....	11
I.2.1. LES SOURCES .....	11
I.2.2. LES REJETS INDUSTRIELS, DOMESTIQUES ET AGRICOLES.....	13
I.2.2.1. Le bisphénol A.....	15
I.2.2.2. L'éthinylestradiol .....	16
I.2.3. OCCURRENCE.....	16
I.2.3.1. Autres pollutions détectées.....	22
I.3. COMPORTEMENT ET DEVENIR DANS LES FILIERES.....	23
I.3.1. DANS LES STATIONS D'EPURATION.....	23
I.3.1.1. Comportement des perturbateurs endocriniens.....	23
I.3.1.2. Devenir des perturbateurs endocriniens .....	26
I.3.1.3. Conclusion.....	29
I.3.2. DANS LES USINES DE PRODUCTION D'EAU POTABLE .....	30
I.3.2.1. Concentrations des perturbateurs endocriniens en sortie de filère d'eau potable.....	30
I.3.2.2. Efficacité d'élimination de traitements de la filière eau potable .....	31
I.3.2.3. Essais en laboratoire .....	33
I.3.2.3.1. <i>Coagulation/Floculation</i> .....	33
I.3.2.3.2. <i>Chloration</i> .....	34
I.3.2.3.3. <i>Adsorption sur charbon actif</i> .....	35
I.3.2.3.4. <i>Ozonation</i> .....	37
I.3.2.3.5. <i>Membranes</i> .....	37
I.3.2.3.6. <i>Conclusion sur les types de traitements</i> .....	38
I.4.CONCLUSION .....	39
<b>II. ANALYSES DES COMPOSES PERTURBATEURS ENDOCRINIENS.....</b>	<b>40</b>
II.1. METHODES D'ETUDE DU POUVOIR PERTURBATEUR ENDOCRINIEN .....	40
II.1.1. TESTS <i>IN VITRO</i> .....	40
II.1.2. TESTS <i>IN VIVO</i> .....	40



II.1.3. METHODES D'ANALYSE "BIOLOGIQUE" DES COMPOSES PERTURBATEURS ENDOCRINIENS.....	41
II.1.3.1. Méthode de dosage ELISA.....	41
II.1.3.2. Méthode de dosage YES.....	42
II.2. METHODES D'ANALYSE CHIMIQUE DES PERTURBATEURS ENDOCRINIENS .....	43
II.2.1. TRAITEMENT DE L'ECHANTILLON.....	43
II.2.1.1. Echantillons solides .....	44
II.2.1.2. Echantillons liquides.....	45
II.2.2. SEPARATION CHROMATOGRAPHIQUE .....	48
II.2.2.1. Analyse par chromatographie en phases gazeuse et liquide .....	48
II.2.2.2. Conditions de séparation en chromatographie liquide .....	49
II.2.2.3. Chromatographie liquide à ultra haute pression .....	50
II.2.3. DETECTION DES ANALYTES .....	50
II.2.3.1. Détection électrochimique .....	50
II.2.3.2. Absorbance et Fluorescence UV .....	51
II.2.3.3. Spectrométrie de masse .....	52
II.2.4. CONCLUSION. ....	53
II.3. VALIDATION DE METHODES D'ANALYSE .....	54
II.3.1. DETERMINATION DE LA LINEARITE .....	55
II.3.1.1. Homoscédasticité des variances de l'erreur .....	57
II.3.1.2. Hétéroscédasticité des variances de l'erreur .....	60
II.3.2. EXACTITUDE DE LA METHODE D'ANALYSE ET DES RESULTATS .....	63
II.3.3. DETERMINATION DES LIMITES DE LA METHODE D'ANALYSE.....	66
II.4. CONCLUSION.....	71
III. ADSORPTION SUR CHARBON ACTIF.....	72
III.1. GENERALITES.....	72
III.1.1. PRINCIPE. ....	72
III.1.2. CARACTERISTIQUES DU CHARBON ACTIF.....	72
III.1.3. FACTEURS INFLUENÇANT L'ADSORPTION.....	73
III.2. MODELISATION DE L'EQUILIBRE D'ADSORPTION.....	74
III.2.1. ADSORPTION DES SOLUTES EN SOLUTION PURE.....	74
III.2.1.1. Modèle de Freundlich (1906).....	74
III.2.1.2. Modèle de Langmuir (1915).....	75
III.2.1.3. Modèle de Langmuir-Freundlich .....	75
III.2.2. ADSORPTION DE CORPS PURS EN MELANGE.....	76
III.2.2.1. Modèle compétitif de Langmuir.....	76
III.2.2.2. Modèle compétitif de Freundlich.....	76
III.2.2.3. Théorie de la Solution Adsorbée Idéale.....	77
III.2.3. ADSORPTION DE SOLUTES EN EAU NATURELLE.....	79
III.3. MODELISATION DE LA CINETIQUE D'ADSORPTION .....	80
III.3.1. MECANISME D'ADSORPTION.....	80
III.3.2. DIFFUSION EXTERNE ET DIFFUSION SUPERFICIELLE LIMITANTES.....	83
III.4. ADSORPTION SUR CHARBON ACTIF DES PERTURBATEURS ENDOCRINIENS.....	85
III.4.1. INTRODUCTION.....	85
III.4.2. EQUILIBRE D'ADSORPTION.....	86
III.4.3. CINETIQUE D'ADSORPTION.....	89
III.4.4. CONCLUSION.....	91
IV. CONCLUSION ET OBJECTIFS DE L'ETUDE.....	92

<b>CHAPITRE II : DEVELOPPEMENT, VALIDATION ET COMPARAISON DES METHODES D'ANALYSE.....</b>	<b>94</b>
I. INTRODUCTION.....	94
II. MATERIEL ET METHODES.....	95
II.1. PERTURBATEURS ENDOCRINIENS SELECTIONNES.....	95
II.1.1. PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES.....	95
II.2. REACTIFS ET PRODUITS CHIMIQUES.....	96
II.3. OUTILS ANALYTIQUES.....	97
II.3.1. L'EXTRACTION SUR PHASE SOLIDE (SPE).....	97
II.3.2. L'ANALYSE PAR UHPLC-MS/MS.....	99
II.3.3. L'ANALYSE PAR HPLC-FLUO.....	100
II.4. CARACTERISTIQUES DES MATRICES DE TRAVAIL.....	101
II.4.1. EAU ULTRA PURE.....	101
II.4.2. EAU NATURELLE.....	101
II.4.3. EFFETS DE MATRICE.....	101
II.4.3.1. Détection par fluorescence UV.....	101
II.4.3.2. Détection par spectrométrie de masse.....	102
II.4.3.3. Méthodes de compensation des effets de matrice.....	102
II.5. VALIDATION, OUTILS STATISTIQUES ET ETUDE DES EFFETS DE MATRICE.....	103
II.5.1. VALIDATION DES METHODES D'ANALYSE.....	103
II.5.2. ETUDE DES EFFETS DE MATRICE.....	103
III. DEVELOPPEMENT DES METHODES D'ANALYSE.....	105
III.1. INTRODUCTION.....	105
III.2. DETECTION PAR SPECTROMETRIE DE MASSE EN TANDEM.....	106
III.3. OPTIMISATION DES CONDITIONS CHROMATOGRAPHIQUES.....	106
III.3.1. CHROMATOGRAPHIE LIQUIDE HAUTE PERFORMANCE.....	106
III.3.2. CHROMATOGRAPHIE LIQUIDE ULTRA HAUTE PRESSION.....	108
III.4. COMPARAISON DES DETECTIONS SPECTROMETRIQUES ET FLUORIMETRIQUES.....	109
III.4.1. COMPOSITION DU SOLVANT D'INJECTION.....	110
III.4.2. ETUDE DE LA VARIATION DU SIGNAL DANS LE TEMPS.....	111
III.5. OPTIMISATION DE L'EXTRACTION SUR PHASE SOLIDE.....	113
IV. VALIDATION ET COMPARAISON DES METHODES D'ANALYSE.....	114
IV.1. PERFORMANCES DES METHODES HPLC-FLUO ET UPLC-MS/MS.....	115
IV.1.1. ETALONNAGE.....	115
IV.1.2. RENDEMENTS D'EXTRACTION.....	116
IV.1.3. REPETABILITE ET JUSTESSE.....	117
IV.1.3.1. Stabilité de la répétabilité.....	117
IV.1.3.2. Variance de répétabilité.....	119
IV.1.3.3. Justesse.....	120
IV.1.4. LIMITES DE LA METHODE ET DES RESULTATS.....	121
IV.1.4.1. Analyse de l'Hétéroscédasticité de la réponse en UPLC-MS/MS.....	121

IV.1.5. INTERVALLES DE CONFIANCE SUR LA VALEUR ESTIMEE .....	135
IV.1.5.1. Développement des formules des intervalles de confiance pour les deux méthodes d'analyse	135
IV.1.5.2. Calcul ds intervalles de confiance .....	137
IV.1.5.2.1. Intervalles de confiance de l'HPLC-Fluo.....	137
IV.1.5.2.2. Intervalles de confiance de l'UPLC-MS/MS.....	137
IV.1.6. CONCLUSION .....	139
V. ETUDE DES EFFETS DE MATRICE.....	140
V.1. INTRODUCTION.....	140
V.2. DETERMINATION DES RENDEMENTS. ....	140
V.3. DETERMINATION DES EFFETS DE MATRICE. ....	143
V.3.1. EFFETS DE MATRICE DE LA METHODE HPLC-FLUO.....	143
V.3.2. SENSIBILITE DE LA METHODE UPLC-MS/MS.....	143
V.3.3. COMPENSATION DE LA VARIATION DU SIGNAL POUR LES SOLUTIONS ETALONS NON EXTRAITES ET EXTRAITES. ....	145
V.3.4. COMPENSATION DES EFFETS DE MATRICE. ....	145
V.3.5. RENDEMENT D'IONISATION RI.....	147
V.3.6. RENDEMENT D'IONISATION RI <sub>0</sub> ET COMPENSATION DES EFFETS DE MATRICE. ....	147
V.3.7. EFFETS DE MATRICE SUR L'ETHINYLESTRADIOL.....	148
V.4. ETUDE DES EFFETS DE MATRICE DE LA CAMPAGNE 2.....	149
V.5. DISCUSSION DE L'ETUDE DES EFFETS DE MATRICE. ....	152
V. CONCLUSION.....	153

**CHAPITRE III : MODELISATION ET EXTRAPOLATION DES EQUILIBRES ET  
CINETIQUES D'ADSORPTION.....156**

I. INTRODUCTION.....	156
II. MATERIEL ET METHODES .....	159
II.1. PERTURBATEURS ENDOCRINIENS CHOISIS .....	159
II.2. CHARBONS ACTIFS UTILISES .....	160
II.3. EAUX UTILISEES .....	160
II.4. PROTOCOLE EXPERIMENTAL.....	161
II.4.1. MANIPULATIONS A HAUTE CONCENTRATION.....	162
II.4.1.1. Isothermes d'adsorption .....	162
II.4.1.2. Cinétiques d'adsorption.....	163
II.4.2. MANIPULATIONS A BASSE CONCENTRATION .....	163
II.4.2.1. Isothermes d'adsorption .....	163
II.4.2.2. Cinétiques d'adsorption.....	163
II.4.2.3. Analyses .....	163
II.4.2.4. Précision, incertitudes des résultats .....	164

II.5. MODELISATION ET SIMULATION DES EQUILIBRES ET CINETIQUES D'ADSORPTION.....	164
II.5.1. MODELISATION DE L'ADSORPTION .....	165
II.5.2. OBTENTION DES PARAMETRES CINETIQUES ET D'EQUILIBRE .....	167
II.5.3. DETERMINATION DES PARAMETRES ET SIMULATION DES MODELES D'EQUILIBRE D'ADSORPTION EN CORPS PUR.....	168
II.5.4. DETERMINATION DES PARAMETRES ET SIMULATION DE L'EBC A PARTIR DES MODELES D'EQUILIBRE D'ADSORPTION EN COMPETITION.....	169
II.5.5. DETERMINATION DES PARAMETRES ET SIMULATION DES MODELES CINETIQUES D'ADSORPTION EN CORPS PUR ET EN COMPETITION .....	170
II.5.6. CONSTRUCTION D'UN PROTOCOLE DESTINE A L'EXTRAPOLATION .....	170
III. MODELISATION ET EXTRAPOLATION DES EQUILIBRES D'ADSORPTION .....	171
III.1. INTRODUCTION .....	171
III.2. EQUILIBRES ISOTHERMES D'ADSORPTION EN CORPS PUR .....	172
III.2.1. EQUILIBRES A HAUTE CONCENTRATION .....	172
III.2.1.1. Influence du type de charbon et de molécule sur les capacités d'adsorption.....	172
III.2.1.2. Détermination des modèles d'équilibre à haute concentration.....	175
III.2.2. EXPERIENCE A BASSE CONCENTRATION ET EXTRAPOLATION DES MODELES.....	177
III.2.3. DETERMINATION DES MODELES D'EQUILIBRE SUR LA GAMME TOTALE DE CONCENTRATION .....	181
III.2.3.1. Evaluation des erreurs de la simulation .....	181
III.2.3.2. Discussion des paramètres du modèle de Langmuir-Freundlich .....	185
III.2.4. CONCLUSION .....	187
III.3. EQUILIBRES ISOTHERMES D'ADSORPTION EN COMPETITION .....	188
III.3.1. INTRODUCTION .....	188
III.3.2. ISOTHERMES D'ADSORPTION EN COMPETITION A HAUTE CONCENTRATION.....	189
III.3.3. ISOTHERMES D'ADSORPTION A BASSE CONCENTRATION ET AJUSTEMENT SUR LA GAMME TOTALE DE CONCENTRATION .....	191
III.3.3.1. Adsorption compétitive à basse concentration .....	191
III.3.3.2. Ajustement du modèle IAST-EBC sur les deux gammes de concentration des perturbateurs endocriniens .....	193
III.3.3.3. Discussion des paramètres d'équilibre de l'EBC .....	195
III.3.3.4. Conclusion.....	196
III.3.4. EXTRAPOLATION PARTIELLE DES CAPACITES D'ADSORPTION ET EVALUATION DE L'ERREUR D'EXTRAPOLATION DU MODELE IAST-EBC .....	197
III.3.4.1. Introduction .....	197
III.3.4.2. Paramètres de l'EBC.....	197
III.3.4.3. Extrapolation des capacités d'adsorption .....	198
III.3.4.4. Conclusion.....	202
III.3.5. EXTRAPOLATION TOTALE DES CAPACITES D'ADSORPTION A BASSE CONCENTRATION .....	203
III.3.5.1. Introduction .....	203
III.3.5.2. Extrapolation des capacités d'adsorption .....	203
III.3.6. DISCUSSION DE L'APPROCHE DE PREDICTION DES CAPACITES D'ADSORPTION .....	207
III.3.7. PROTOCOLE DE L'OUTIL D'EXTRAPOLATION .....	208
III.3. CONCLUSION. ....	211
IV. MODELISATION ET EXTRAPOLATION DES CINETIQUES D'ADSORPTION.....	212
IV.1. INTRODUCTION.....	212
IV.2. CINETIQUES D'ADSORPTION EN CORPS PURS.....	213
IV.2.1. DETERMINATION DES PARAMETRES CINETIQUES DES COMPOSES CIBLES .....	213
IV.2.2. EXTRAPOLATION DES CINETIQUES D'ADSORPTION A BASSE CONCENTRATION .....	218

IV.2.3. DISCUSSION DES PARAMETRES CINETIQUES .....	220
IV.3.CINETIQUES D'ADSORPTION EN COMPETITION .....	222
IV.3.1. INTRODUCTION .....	222
IV.3.2. DETERMINATION DES PARAMETRES CINETIQUES DE L'EBC.....	222
IV.3.3. EXTRAPOLATION DES CINETIQUES D'ADSORPTION COMPETITIVE A BASSE CONCENTRATION .....	227
IV.4.CONCLUSION. ....	231
V. SYNTHESE SUR LA METHODOLOGIE D'EXTRAPOLATION .....	232
V.1. INTRODUCTION.....	232
V.2. MANIPULATIONS ET DETERMINATION DES PARAMETRES D'ADSORPTION.....	232
V.3. CONCLUSION .....	235
VI. CONCLUSION .....	236
<b>CONCLUSION GENERALE.....</b>	<b>238</b>
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....</b>	<b>243</b>
<b>ANNEXES.....</b>	<b>259</b>

# NOTATIONS

---

## I. ACRONYMES

CAG	Charbon Actif en Grain
CAP	Charbon Actif en Poudre
COT	Carbone Organique Total
EBC	Equivalent Background Compound ou Composé Fictif
HSDM	Homogeneous Surface Diffusion Model ou Modèle de la Diffusion de Surface Homogène
IAST	Ideal Adsorbed Solution Theory ou Théorie de la Solution Adsorbée Idéale
MON	Matière Organique Naturelle
RPA	Réacteur Parfaitement Agité
HPLC	High Pressure Liquid Chromatography
UPLC	Ultra Performance Liquid Chromatography
UHPLC	Ultra High Pressure Liquid Chromatography
MS	Mass Spectrometry
Fluo	Fluorimétrie
SPE	Solid Phase Extraction
SPME	Solid Phase Micro Extraction
SBSE	Stir Bar Sorptive Extraction
EUP	Eau ultra pure

## II. NOMENCLATURE

*(L'abréviation M représente une quantité de matière, molaire ou massique)*

$A_p$	Aire volumique de l'adsorbant [ $L^2.L^{-3}$ ]
$C$	Concentration en phase liquide [ $M.L^{-3}$ ]
$C_b$	Concentration au cœur de la solution [ $M.L^{-3}$ ]
$C_{exp}$	Concentration (donnée expérimentale) [ $M.L^{-3}$ ]
$C_{mod}$	Concentration (donnée calculée) [ $M.L^{-3}$ ]
$C_0$	Concentration initiale du composé i en mélange [ $M.L^{-3}$ ]
$C_s$	Concentration du composé i à l'interface liquide/solide [ $M.L^{-3}$ ]
$D_{mol}$	Coefficient de diffusion moléculaire [ $L^2.T^{-1}$ ]
$D_p$	Coefficient de diffusion poreuse [ $L^2.T^{-1}$ ]
$D_s$	Coefficient de diffusion superficielle [ $L^2.T^{-1}$ ]
$K$	Coefficient de Freundlich [ $M.M^{-1}].[M.L^{-3}]^{(1/n)}$ ]
$k_r$	Coefficient de résistance au transfert de masse externe [ $L.T^{-1}$ ]
$M$	Masse molaire du soluté [ $M.mol^{-1}$ ]
$n$	Coefficient de Freundlich
$nc$	Nombre de composés en mélange
$q$	Concentration en phase solide [ $M.M^{-1}$ ]
$q$	Concentration du composé i dans le cas d'un mélange [ $M.M^{-1}$ ]
$q_s$	Concentration du composé i à l'interface liquide/solide [ $M.M^{-1}$ ]
$r$	Distance au centre du grain [L]
$R_p$	Rayon du grain d'adsorbant [L]
$t$	Temps [T]
$\theta$	Température [ $\theta$ ]
$V$	Volume du réacteur [ $L^3$ ]

$V_m$	Volume molaire au point d'ébullition [ $L^3 \cdot mol^{-1}$ ]
$w$	Masse d'adsorbant par volume de réacteur [ $M \cdot L^{-3}$ ]
$X$	Coefficient d'association du solvant
$x_i$	Fraction molaire du composé
$\delta$	Epaisseur du film liquide externe au grain [L]
$\varepsilon$	Indice de vide du grain
$\rho$	Masse volumique du liquide [ $M \cdot L^{-3}$ ]
$\mu$	Viscosité du liquide [ $M \cdot L^{-1} \cdot T^{-1}$ ]
$\pi$	Pression d'étalement ou différence de tension interfaciale [ $M \cdot T^{-2}$ ]

### III. NOMBRES ADIMENSIONNELS

Biot	Nombre de Biot	$\frac{k_f R_p C_{ref}}{D_s \rho_a q_{ref}}$
------	----------------	--

### IV. INDICES

b	Cœur du fluide (bulk)
e	Equilibre
i	Composé numéro i
s	Surface du matériau

### V. UNITES USUELLES

C	Concentrations en phase liquide en $\mu g \cdot L^{-1}$ ou en $\mu mol \cdot L^{-1}$
D	Coefficients de diffusion en $cm^2 \cdot s^{-1}$
$k_r$	Coefficient de transfert de masse externe en $cm \cdot s^{-1}$
K	Coefficient de Freundlich, en $(\mu g \cdot g^{-1}) \cdot (\mu g \cdot L^{-1})^{-1/n}$ ou $(\mu mol \cdot g^{-1}) \cdot (\mu mol \cdot L^{-1})^{-1/n}$
m	Masse de charbon dans le réacteur en <b>mg</b>
q	Concentrations en phase solide en $\mu g \cdot g^{-1}$ ou en $\mu mol \cdot g^{-1}$
$R_p$	Rayon du grain en <b>m</b> (calculs), <b>cm</b> ou <b>mm</b> (résultats)
V	Volume du réacteur en <b>L</b>
w	Dose de charbon en <b>mg</b> ·L <sup>-1</sup>
$\rho$	Masse volumique en <b>kg</b> ·m <sup>-3</sup>

# **INTRODUCTION GENERALE**





## INTRODUCTION GENERALE

L'augmentation constante de la consommation de produits chimiques, dans les domaines de la production industrielle et agricole, et pharmaceutiques, comme dans la vie courante est la cause de la présence des perturbateurs endocriniens dans l'environnement. Des études biologiques ont montré le potentiel estrogénique à des niveaux de concentration très bas de ces molécules, au  $\text{ng.L}^{-1}$  pour certaines. Des teneurs supérieures à ces seuils ont été observées dans l'environnement, tout comme leurs effets sur la faune. Bien que les effets observés ne soient pas automatiquement transposables à l'Homme, la présence de ces produits dans l'environnement aquatique peut constituer un risque pour la Santé Publique. Les concentrations rencontrées dans les eaux naturelles varient d'un composé à l'autre et d'un site à l'autre, pour des niveaux allant du  $\mu\text{g.L}^{-1}$ , pour les plastifiants et les agents de surfaces, au  $\text{ng.L}^{-1}$ , pour les hormones stéroïdes.

Ce constat environnemental suscite des interrogations vis-à-vis du niveau de l'exposition humaine ; une attention particulière est notamment donnée à l'eau potable, la qualité de ses ressources et l'efficacité de ses traitements. Les procédés de potabilisation actuels ne sont pas dimensionnés en vue de l'abattement de la pollution jusqu'au-dessous du  $\text{ng.L}^{-1}$ , une évaluation approfondie des performances des traitements est donc nécessaire, en particulier de ceux pouvant avoir une action directe sur les composés organiques dissous. Les procédés les plus couramment employés pour l'élimination de la contamination organique des eaux sont la filtration membranaire, l'oxydation et l'adsorption sur charbon actif.

Le procédé d'adsorption sur charbon actif est conçu spécifiquement pour traiter la pollution organique. Il intervient sous forme de poudre en début de filière à l'occasion de pics de pollution et/ou sous forme granulaire dans des lits fixes avant l'étape de désinfection finale. L'efficacité d'élimination de ce procédé est fonction des caractéristiques du matériau adsorbant, des propriétés physico-chimiques des adsorbats et de la nature de l'eau à traiter. Dans le cas des perturbateurs endocriniens, la concentration du composé cible est un paramètre clé dont il faut mesurer les conséquences sur les constantes cinétiques et sur les capacités d'adsorption, notamment en raison de la présence de la matière organique naturelle de l'eau. Les informations les plus précises sont obtenues en réalisant des expérimentations directement dans les conditions du traitement : ultra-traces, eau naturelle ayant subi les premières étapes du traitement, contacteur en lit fixe. Cependant, ces expérimentations peuvent s'avérer longues, lourdes et onéreuses, compte tenu notamment de la difficulté de l'analyse à ce niveau de concentration. Il faudrait être en mesure de prévoir les performances des lits fixes à partir de manipulations plus

simples et à plus forte concentration. Un ensemble de modèles ont été développés ces dernières décennies et sont couramment employés pour la simulation des équilibres et cinétiques d'adsorption dans le cadre du traitement des composés phytosanitaires. S'ils constituent une représentation correcte des phénomènes physico-chimiques, ils devraient pouvoir être utilisés à des fins d'extrapolation.

L'étude et l'analyse des perturbateurs endocriniens au niveau du ppt (parts par trillion) en situation, nécessitent la maîtrise de techniques analytiques performantes tant en identification qu'en quantification. Les développements les plus récents s'orientent actuellement vers la chromatographie liquide associée à une détection par spectrométrie de masse en tandem et les systèmes chromatographiques à très haute pression (UHPLC). Mais ces appareils ne suffisent pas : il faut une préparation d'échantillon comportant extractions, purifications, concentrations, etc. permettant de collecter sélectivement suffisamment de molécules, et dans un volume suffisamment faible, pour que leurs concentrations puissent être mesurées. Ces nouvelles méthodes présentent quelques singularités, par rapport aux techniques antérieures, qui viennent perturber l'interprétation des résultats en termes de précision : leurs résultats ont des variances hétéroscédastiques.

Les travaux présentés dans ce mémoire ont pour objectif l'évaluation de certains modèles d'équilibre et de cinétique d'adsorption vis-à-vis de leur capacité à prévoir les performances des charbons actifs dans les conditions réelles (polluant au  $\text{ng.L}^{-1}$ , présence de matière organique). Une partie de l'étude est consacrée à la mise en place d'une méthode d'analyse de traces et à la détermination des intervalles de confiance des résultats, afin de vérifier directement la justesse des prédictions en réalisant les manipulations à basse concentration. A l'issue de cette étude, une méthodologie permettant d'obtenir les paramètres d'équilibre et cinétiques des composés cibles à basse concentration sera présentée.

Le premier chapitre présente une étude bibliographique sur la problématique des perturbateurs endocriniens, leurs effets, leur occurrence dans l'environnement et l'impact des procédés de traitement pour leur élimination. Un état de l'art des méthodes permettant l'analyse de ces composés et des outils statistiques de validation de méthodes d'analyse sera ensuite exposé. Enfin, les bases théoriques sur la modélisation des équilibres et des cinétiques d'adsorption sur charbon actif, en eau pure et en eau naturelle, seront rappelées.

Le deuxième chapitre est consacré au développement et à la validation de deux méthodes d'analyse. La chromatographie liquide haute performance couplée à un détecteur fluorimétrique ainsi que la chromatographie liquide à ultra haute pression couplée à un spectromètre de masse

en tandem seront utilisées pour la détermination des concentrations des composés cibles, dans l'eau pure et l'eau naturelle. Pour les échantillons de l'ordre du  $\text{ng.L}^{-1}$ , une étape d'extraction sur phase solide sera développée. L'évaluation des performances des méthodes mises en place sera effectuée à l'aide d'une analyse statistique poussée. Puis, l'effet des interférents contenus dans l'eau naturelle sur les performances de la méthode sera étudié.

Enfin, dans le troisième chapitre, nous allons développer une méthodologie d'obtention des paramètres d'adsorption des modèles d'équilibre et de cinétique. Nous considérerons trois modèles d'équilibre d'adsorption en corps pur très employés : les modèles de Freundlich, Langmuir et Langmuir-Freundlich. Pour les équilibres d'adsorption en eau naturelle, en présence de matière organique, nous adopterons l'approche du composé fictif équivalent (EBC) associée à la théorie de la solution idéale adsorbée (IAST). Nous utiliserons la procédure développée par Gicquel (1996), qui consiste en la réalisation des isothermes d'adsorption compétitive à différentes concentrations de l'EBC. Les paramètres cinétiques du composé cible et de l'EBC ont été déterminés à l'aide du modèle de diffusion de surface homogène (HSDM). Nous évaluerons la capacité d'extrapolation de ces modèles, en réalisant les manipulations d'équilibres isothermes et de cinétiques d'adsorption au  $\mu\text{g.L}^{-1}$  puis au  $\text{ng.L}^{-1}$ . Nous focaliserons notre étude sur la justesse de l'extrapolation en fonction du nombre et du type d'expérimentations réalisées pour calibrer les modèles d'adsorption. Lors de l'étude des équilibres d'adsorption en eau naturelle, nous déterminerons l'effet de l'adsorption compétitive de la matière organique naturelle sur les capacités d'adsorption du composé cible, en fonction du niveau de concentration de ce dernier. Et lors de l'étude des cinétiques d'adsorption, nous quantifierons le coefficient de diffusion superficielle du composé cible et de l'EBC à deux niveaux de concentration, et nous étudierons leurs évolutions.

Cette étude a été menée au sein de l'Equipe Chimie et Ingénierie des Procédés à l'Ecole Nationale Supérieure de Chimie de Rennes. Deux perturbateurs endocriniens représentatifs ont été sélectionnés : l'éthinylestradiol, une hormone de synthèse, et le bisphénol A, un plastifiant. Deux charbons actifs couramment utilisés pour le traitement de l'eau potable (F400 et NC 90) ont été considérés. Enfin, l'effet de la matière organique a été étudié à l'aide de deux types d'eau naturelle : la première est l'eau d'un puits de Rennes, et la seconde provient de la rivière le Meu dans l'Ille-et-Vilaine alimentant pour partie l'usine de production d'eau potable de Villejean.



**CHAPITRE I**  
**BIBLIOGRAPHIE**



## I. LES PERTURBATEURS ENDOCRINIENS

### I.1. GENERALITES

#### I.1.1. DEFINITION

Les premiers effets d'une perturbation de la fonction endocrine par des agents exogènes ont été observés sur le système reproducteur d'oiseaux de mer et de truites arc-en-ciel (Fry et Toone, 1981; Clement et Colborn, 1992). Ces molécules ont alors été définies comme xénoestrogènes, substances estrogéniques ou estrogéno-mimétiques. Cependant, il a ensuite été montré que ces substances pouvaient agir à d'autres niveaux du système hormonal. Des études ont par exemple émis l'hypothèse que certains xénoestrogènes augmenteraient les risques de cancer du sein (Davis *et al.*, 1993). Le concept de perturbateur endocrinien a donc été proposé afin d'englober les substances agissant à différents niveaux du système hormonal. La définition exacte d'un perturbateur endocrinien, validée par la Communauté Européenne est la suivante : « Un perturbateur endocrinien est une substance ou un mélange exogène qui altère la ou les fonction(s) du système endocrinien et induit par conséquent des effets néfastes sur un organisme sain, sa progéniture ou ses sous-populations » (Rapport COM (1999) 706).

#### I.1.2. CLASSES DES PERTURBATEURS ENDOCRINIENS

Les perturbateurs endocriniens peuvent être classés en deux groupes (Tableau I.1).

*Les substances d'origine naturelle :*

- les hormones naturelles qui comprennent les hormones estrogènes, la progestérone et la testostérone sécrétées par l'Homme et les animaux,
- les phytoestrogènes sécrétées par des plantes telles que la luzerne ou le soja, ou par le bois (génistéine, zéaralénone, béta-sitostérol),
- certaines mycotoxines produites par quelques champignons (Deborde, 2006).

*Les substances d'origine anthropique :*

- les hormones synthétiques conçues pour agir sur le système endocrinien, parmi lesquelles on retrouve des hormones analogues aux hormones naturelles (contraceptifs oraux, hormones



utilisées dans les traitements de substitution) et certains additifs alimentaires pour animaux (estradiol, estrone, progestérone...) (Birkett et Lester, 2003),

- les composés chimiques de synthèse utilisés dans l'industrie, l'agriculture, les biens de consommation et certains sous-produits industriels,

- certains métaux lourds (Deborde, 2006).

Tableau I.1. Exemples de composés perturbateurs endocriniens (Deborde, 2006)

Groupes	Sous-groupes	Exemples de composés	Origines
SUBSTANCES NATURELLES	Hormones naturelles	<ul style="list-style-type: none"> <li><u>Estrogènes</u> : estradiol, estriol, estrone,...</li> <li><u>Progestogènes</u> : progestérone,...</li> <li><u>Androgènes</u> : testostérone,...</li> </ul>	Humaine ou animale
	Phytoestrogènes	Coumestrol, génistéine,...	Plantes
	Mycotoxines	Zéaralénone,...	Champignons
SUBSTANCES D'ORIGINE ANTHROPIQUE	Hormones de synthèse	Ethinylestradiol, lévonorgestrel, mestranol, northistérone...	Contraceptifs
		Norethistérone, estradiol	Traitements hormonaux substitutifs
		Estradiol,...	Additifs alimentaires
	Autres produits chimiques	<ul style="list-style-type: none"> <li><u>Produits phytosanitaires</u> : heptachlore, carbaryl, lindane, perméthrine, dicofol, DDT,...</li> <li><u>Organochlorés</u> : Dioxines, PCB, PCDF, ...</li> <li><u>Organobromés</u> : PBDE</li> <li><u>AP et APE</u> : Nonylphénol,...</li> <li><u>Autres</u> : Bisphénol A, TBBA, EAP, HAP...</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Agriculture</li> <li>Produits ou sous-produits industriels</li> <li>Surfactants</li> <li>Résine époxy et polycarbonates, plastifiants, sous produits de combustion...</li> </ul>
		Métaux lourds	Plomb, mercure, cadmium,...

EAP : Esters de l'acide phtalique, HAP : Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques, PCB : Polychlorobiphényles, PBDE : Polybromodiphényléthers, TBBA : Tribromobisphénol A, TBT : Tributylétain, AP : Alkylphénols, APE : Ethoxylates d'alkylphénol, PCDF : Polychlorodibenzofuranes

### I.1.3. LES EFFETS PERTURBATEURS ENDOCRINIENS

#### I.1.3.1. Effets sur les animaux

Les perturbateurs endocriniens les plus étudiés sont les xénoestrogènes. Quatre mécanismes d'action au niveau de l'organisme sont possibles. Ces substances peuvent se fixer sur les récepteurs à estrogènes et générer une réponse injustifiée, ou bloquer l'accès aux hormones naturelles, empêchant la réponse de la cellule. Ces substances peuvent également interférer dans la synthèse ou le métabolisme des stéroïdes naturels et ainsi affecter leur taux de synthèse ou d'élimination. Enfin, elles peuvent se lier aux protéines de transport plasmatiques dans le sang, et influencer indirectement sur la fraction plasmatique d'hormones endogènes libres dites biologiquement actives (Cargouët, 2003).

Les effets des perturbateurs endocriniens ont été révélés par des études *in-vitro* et *in-vivo*. La faune aquatique est très souvent sollicitée pour les tests. Des effets de perturbation de la fonction endocrine ont été observés chez les poissons ayant été en contact avec ce type de molécules. Cette perturbation se traduit, entre autres, chez les mâles par une induction d'une hormone féminine, la vitellogénine (VTG), par l'apparition de cellules féminines dans les testicules et par une modification du sex-ratio de la progéniture (Tableau I.2).

Tableau I.2. Exemples des effets perturbateurs endocriniens observés chez les poissons (Deborde, 2006)

Espèce de poisson	Pays	Composés suspectés ou origine	Effets observés	Références
Barbu ( <i>Barbus plebejus</i> )	Italie (Rivière Pô)	Eaux usées déversées dans un affluent de la rivière	- Phénomène d'intersexualité	Viganò <i>et al.</i> , 2001
Flet Européen ( <i>Platichthys flesus</i> )	Royaume-Uni (Estuaire de la rivière Tyne)	Alkylphénols provenant d'effluents de stations d'épuration	- Induction de vitellogénine - Anomalie des testicules	Lye <i>et al.</i> , 1997, 1998 et 1999
White Sucker ( <i>Catostomus commersoni</i> )	Canada (Lac supérieur)	Effluents de fabriques de papier	- Réduction de la taille des gonades - Retard de la maturation sexuelle - Diminution de l'expression des caractères sexuels secondaires	Van Der Kraak <i>et al.</i> , 1998
Mosquitofish ( <i>Gambusia affinis</i> )	Etats-Unis (Floride)	Eaux contaminées par des effluents de fabriques de papier contenant de grandes quantités de phytostéroïdes	- Masculinisation des femelles avec transformation de la nageoire anale en une structure similaire au gonopode des mâles	Howell <i>et al.</i> , 1980; Howell et Denton, 1989; Bortone et Cody, 1999

Le potentiel bioactif des perturbateurs endocriniens varie selon le type de molécule (Tableau I.3). Les hormones stéroïdiennes ont un potentiel estrogénique plus important que les autres types de molécules telles que les plastifiants ou surfactants. Le 17 $\beta$ -estradiol (E2) est d'ailleurs souvent utilisé en tant que référence dans les études qui cherchent à quantifier le potentiel estrogénique de composés chimiques (Coldham *et al.*, 1997) (Tableau I.4).

Tableau I.3. Concentration et période d'exposition minimales engendrant la bioactivité de différents perturbateurs endocriniens

Espèce de poisson	Conditions d'exposition	Molécule cible	Concentration ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ )	Début des effets (jours)	Références
Poisson zèbre ( <i>Danio rerio</i> )	-	Bisphénol A	375	90	Segner <i>et al.</i> , 2003
	Semi-statique	Bisphénol A	1000	21	Van den Belt <i>et al.</i> , 2003
	Continu	Ethinylestradiol	0,003	8	Rose <i>et al.</i> , 2002
	-	Ethinylestradiol	0,0006	20-60	Petersen <i>et al.</i> , 2001
	-	Ethinylestradiol	0,002	21	Fenske <i>et al.</i> , 2001
Truite arc-en-ciel ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> )	Semi-statique	Nonylphénol	20,3	21	Jobling <i>et al.</i> , 1996
		Octylphénol	4,8	21	
	-	Ethinylestradiol	0,0001	10	Purdom <i>et al.</i> , 1994
Medaka japonais ( <i>Oryzias latipes</i> )	-	Ethinylestradiol	0,0001	100	Metcalfé <i>et al.</i> , 2001

- : non renseigné

Le tableau I.4 donne les potentiels estrogéniques maximaux de molécules représentant différentes familles de perturbateurs endocriniens. De nombreuses études ont montré les effets sur la faune aquatique des hormones stéroïdes, les composés les plus actifs (Purdom *et al.*, 1994; Routledge et Sumpter, 1997; Van den Belt *et al.*, 2003). De l'estrone (E1), l'estradiol, l'estriol (E3), hormones naturelles, et l'éthinylestradiol (EE2), synthétique, c'est l'hormone de synthèse qui est la plus active (Metcalfé *et al.*, 2001; Van den Belt *et al.*, 2003).

Après 8 jours d'exposition à l'éthinylestradiol en flux continu, une induction significative de la VTG a été détectée chez des poissons zèbres pour une LOEC (Lowest Observed Effect Concentration) de 2,97 ng.L<sup>-1</sup> (Rose *et al.*, 2002) (Tableau I.3). Cette valeur concorde avec celle trouvée par Fenske *et al.* l'année précédente. Pour une exposition de 21 jours chez la même espèce de poisson, une induction de VTG a été détectée pour une LOEC de 1,67 ng.L<sup>-1</sup>. Cependant en 1994, l'étude de Purdom *et al.* a donné une valeur de LOEC pour l'éthinylestradiol dix fois plus faible. Ils montrent chez la truite arc-en-ciel une induction de la VTG après 10 jours d'exposition à 0,1 ng.L<sup>-1</sup>. Des études sur l'induction de l'intersexualité et les changements du sex-ratio ont également été menées pour cette hormone synthétique.

L'intersexualité de medakas japonais a été observée après 100 jours d'exposition à une concentration de 0,1 ng.L<sup>-1</sup> (Metcalf *et al.*, 2001) et une modification du sex-ratio de poissons zèbres a été détectée après 20 à 60 jours d'exposition à 0,6 ng.L<sup>-1</sup> d'éthinylestradiol (Petersen *et al.*, 2001).

Tableau I.4. Potentiel estrogénique relatif maximal de molécules appartenant aux familles des hormones stéroïdes, des agents de surface et des plastifiants

Molécule	Potentiel estrogénique (%)	Références
17β-estradiol	100	
Estrone	30	
Estriol	1	Leroy et Manciot, 2006
17α-éthinylestradiol	200	
Nonylphénol	0,02	
Bisphénol A	0,5	Coldham <i>et al.</i> , 1997

La bioconcentration et la bioaccumulation sont des phénomènes à prendre en compte lors de l'étude de l'activité potentielle d'une molécule. Certains composés sont susceptibles de se concentrer dans un organisme voire de s'accumuler. De ce fait, il est possible que la perturbation de la fonction endocrine se déclenche à des concentrations inférieures aux NOEC (No Observed Effect Concentration). Des études effectuées sur des têtes-de-boules (*Pimephales promelas*) ont permis de déterminer le facteur de bioconcentration du nonylphénol. Pour des concentrations allant de 0,33 à 2,36 µg.L<sup>-1</sup> pendant 42 jours d'exposition en flux continu, les auteurs ont obtenu des valeurs de ce facteur allant de 245 à 380 (Snyder *et al.*, 2001).

Le potentiel estrogénique, parfois très élevé, additionné à un possible effet additif voire synergique des composés retrouvés dans l'environnement (Silva *et al.*, 2002; Chen *et al.*, 2007) et au phénomène de bioconcentration rend la question des perturbateurs endocriniens très inquiétante pour la faune aquatique.

### I.1.3.2. Effets sur l'Homme

Depuis quelques décennies, l'émergence de troubles des systèmes reproducteur, nerveux central et immunitaire est surveillée de près chez l'Homme. L'origine des maladies hormono-dépendantes est elle-même remise en cause. Toutefois, d'autres hypothèses écartant l'influence des produits chimiques proposent divers mécanismes à l'apparition croissante de ces troubles.

L'amélioration des méthodes de diagnostics, le vieillissement de la population, une puberté plus précoce et une ménopause plus tardive font partie des causes possibles d'une détection plus importante de maladies liées aux troubles du système endocrinien.

Parmi les nombreux troubles de la fonction endocrine qui ont été recensés ces dernières décennies, on peut citer :

- une augmentation des cancers hormono-dépendants (cancers des testicules, de la prostate, du sein, de l'endomètre et de la thyroïde),
- une augmentation des anomalies du système reproducteur,
- une altération de la qualité du sperme,
- un inversement du sex-ratio (naissance d'un plus grand nombre de filles que de garçons) pour une population exposée à certaines de ces substances (Damstra, 2002).

Ces anomalies corroborent les soupçons établis à l'égard des composés dits perturbateurs endocriniens sans pour autant établir de solide relation causale. Hormis les cas d'expositions accidentelles du diéthylstilbestrol (DES) aux Etats-Unis (Schrager et Potter, 2004) et des dioxines à Seveso en Italie (Mocarelli *et al.*, 1996), aucune relation de cause à effet entre l'exposition à une substance spécifique et des effets néfastes sur la santé humaine n'a été établie. De plus, les effets observés sur les animaux sont difficilement transposables à l'Homme et les études toxicologiques sur ce dernier sont plus longues.

En définitive, les acteurs scientifiques et administratifs liés à la problématique des perturbateurs endocriniens adoptent le principe de précaution vis-à-vis de ces composés, les considèrent donc potentiellement nuisibles à la santé humaine, et effectuent leur recherche et actions dans cette optique.

#### I.1.4. STRATEGIES D'ACTION MONDIALE, EUROPEENNE ET NATIONALES

A l'échelle mondiale, l'étude de la problématique des perturbateurs endocriniens a été entreprise par le Programme International sur la Sécurité des substances Chimiques (IPCS) créé par l'Organisation Mondiale de la Santé, l'Organisation Internationale du Travail et le Programme des Nation Unies pour l'Environnement. L'IPCS a publié en 2002 un rapport faisant l'état des connaissances vis-à-vis du risque sanitaire que représentent les perturbateurs endocriniens (Damstra, 2002).

C'est au niveau de l'Europe que l'on dispose de plus d'informations. En 2000, la Commission Européenne a établi une liste de 553 substances prioritaires dont 435 nécessitaient une étude approfondie afin de déterminer leur pouvoir perturbateur. En 2007, après plusieurs études effectuées par différents organismes sollicités par la Commission Européenne, 124 substances ont été écartées pour former une liste de 429 molécules prioritaires dont 194 de Catégorie 1 (perturbation endocrinienne prouvée par test *in vivo*) (Petersen *et al.*, 2007). Celle-ci est disponible sous forme de base de données sur le site internet de la communauté Européenne (EUROPA).

Certains pays agissent également dans le but de faire la lumière sur les risques et les enjeux de cette problématique. En France, le Programme National de Recherche sur les Perturbateurs Endocriniens (PNRPE) a lancé en 2005 un appel à projets de recherche. Les projets retenus en 2008 ont pour but l'évaluation du risque biologique et la tentative d'identification de biomarqueurs protéiques d'une perturbation de la fonction endocrine (Site internet du PNRPE). Dans certains des projets retenus, on peut noter l'implication d'organismes publics, notamment l'INSERM à Rennes. D'autres organismes français, qui ne sont pas liés au PNRPE, s'intéressent aussi à cette problématique. Il s'agit notamment du Cémagref de Lyon qui cherche, en partenariat avec l'Agence de l'Eau Rhône-Méditerranée et Corse, à développer des échantillonneurs passifs dans le but de mesurer la pollution générée par les perturbateurs dans des effluents de stations d'épuration et des milieux aquatiques. Depuis 2005, ce centre surveille les taux de PCB dans la chair des poissons du Rhône. Cette contamination trouve son origine dans les sédiments stockés dans le fleuve. L'Agence de Protection Environnementale des Etats-Unis (USEPA) a lancé en 1996, à la demande du Congrès, son programme de recherche dédié à cette nouvelle pollution, le Endocrine Disruptor Screening Program (EDSP). En 2007, l'agence éditait une liste provisoire de 690 molécules prioritaires, composée des pesticides.

En France, il n'y a pas encore de législation spécifique aux concentrations des perturbateurs endocriniens dans l'environnement aquatique. Néanmoins, il existe déjà une réglementation vis-à-vis de la concentration de certains d'entre eux parce qu'ils font partie d'autres listes de substances prioritaires. La directive européenne n° 76/464/CEE du 4 mai 1976 (codifiée par la directive 2006/11/CE du 15 février 2006 relative à la pollution causée par certaines substances dangereuses déversées dans le milieu aquatique) et la directive cadre sur l'eau n° 2000/60/CE du 23 octobre 2000 ont établi une liste de 157 substances ou familles de substances à contrôler et dont les rejets (de toutes origines) doivent être réduits, voire, pour certaines substances, totalement supprimés. Il ne s'agit pas ici des mesures dédiées aux perturbateurs endocriniens, cependant ces listes en comptent quelques uns tels que le di-2-

éthylhexylphtalate (DEHP) ou le nonylphénol. Dans le cadre de la directive européenne 2000/60/CE, sur le plan national, la circulaire du 28 Juillet 2005 relative à la définition du bon état écologique des eaux douces de surface fixe pour le DEHP et les nonylphénols des valeurs seuil de 1,3 et 0,3  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , respectivement.

## I.2. ORIGINE ET OCCURRENCE

### I.2.1. LES SOURCES

Les perturbateurs endocriniens ont plusieurs points d'entrée dans l'environnement, plusieurs sources. Le type de source peut avoir une influence sur l'exposition humaine, les effets sur les animaux et les effets ou accumulations dans l'environnement. De plus, des études ont montré le caractère ubiquitaire de plusieurs perturbateurs endocriniens. Ces derniers sont non seulement retrouvés dans les eaux mais ils ont également été détectés dans les sols et dans l'air (Rudel *et al.*, 2003; Zeng *et al.*, 2006). Les sources de la pollution générée par les perturbateurs endocriniens sont de deux types, les sources ponctuelles et les sources non ponctuelles (Birkett et Lester, 2003).

#### Les sources ponctuelles

Les sources ponctuelles sont des points d'entrée fixes d'un polluant dans un milieu environnemental (généralement un cours d'eau). Elles sont, de ce fait, plus faciles à contrôler que les sources non ponctuelles. Les principales sources ponctuelles sont les suivantes :

- les effluents de station d'épuration,
- les effluents industriels,
- les effluents agricoles,
- les écoulements via des puits ou trous de sondes dans les couches souterraines,
- les lixiviats de décharges drainés.

#### Les sources non ponctuelles

Les sources non ponctuelles (diffuses) n'ont pas de point d'entrée localisé dans l'environnement. L'entrée des perturbateurs endocriniens dépend du type et du lieu de la source ainsi que de l'état physique des polluants. Si les polluants sont sous forme gazeuse ou de fines

particules en suspension dans l'air, ils peuvent atteindre les sols avec la pluie. La pluie peut également emporter vers des cours d'eau des particules qui se seraient déposées au sol. Si les polluants sont solubles, ils peuvent être transportés sur de longues distances par ruissellements. Les principales sources non ponctuelles sont les suivantes :

- les eaux de ruissellement (pluie et autres) vers les rivières
- les infiltrations vers les eaux souterraines
- les lessivages des sols.

Le tableau I.5 recense les principales sources ponctuelles et diffuses des différents composés et familles de composés perturbateurs endocriniens ainsi que leur point d'entrée dans les eaux environnementales.

Tableau I.5. Source des perturbateurs endocriniens entrant dans l'environnement aquatique (Birkett et Lester, 2003)

Source	Substances susceptibles d'être présentes	Eau réceptrice	Type
Eaux usées domestiques	Estrogènes stéroïdes, Agents de surface, EAP, Bisphénol A	Ponctuelle	Eau de surface
		Non ponctuelle	Eau souterraine
		Ponctuelle (par recharge)	Eau souterraine
Eau usées industrielles	Agents de surface, HAP, PCB, PBDE, Pesticides, EAP, Bisphénol A	Ponctuelle	Eau de surface
Décharges industrielles	Dioxines, PBDE, TBBA, EAP, PCB, HAP, Pesticides, Bisphénol A	Ponctuelle	Eau de surface
		Non ponctuelle	Eau souterraine
Peinture pour bateaux	TBT	Non ponctuelle	Eau de surface
Ecoulements agricoles (récolte)	Pesticides, AP, APE, PBDE, HAP,	Non ponctuelle	Eau de surface
			Eau souterraine
Ecoulements agricoles (élevage)	Estrogènes stéroïdes, HAP,	Non ponctuelle	Eau de surface Eau souterraine
Ruissellement urbain	Pesticides, HAP	Non ponctuelle	Eau de surface Eau souterraine
Lixiviats de décharges publiques	PBDE, TBBA, EAP, Bisphénol A, HAP	Non ponctuelle	Eau de surface Eau souterraine
Déposition par voie aérienne	PCDD, PCDF, PBDE, TBBA, PCB, HAP, Pesticides	Non ponctuelle	Eau de surface Eau souterraine
Nature	HAP, Estrogènes stéroïdes (Phytoestrogènes)	Non ponctuelle	Eau de surface Eau souterraine

EAP : Esters de l'acide phtalique, HAP : Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques, PCB : Polychlorobiphényles, PBDE : Polybromodiphényléthers, TBBA : Tribromobisphénol A, TBT : Tributylétain, AP : Alkylphénols, APE : Ethoxylates d'alkylphénol, PCDF : Polychlorodibenzofuranes



## I.2.2. REJETS INDUSTRIELS, DOMESTIQUES ET AGRICOLES

Certaines familles de polluants sont très caractéristiques de la nature de la source. Elles y seront très spécifiquement retrouvées, et parfois à de fortes concentrations. Cela est d'autant plus vrai pour les sources ponctuelles, telles que par exemple les eaux usées industrielles ou les effluents de ferme. Ainsi, les substances les plus susceptibles d'être retrouvées varient selon la nature de la source ou le type de rejet auquel on s'intéresse. En revanche, d'autres familles de perturbateurs endocriniens sont présentes dans plusieurs types de sources du fait leur présence dans les produits d'usage très courant et universel (Tableau I.5).

Les rejets domestiques représentent, avec certains écoulements agricoles, la principale source des estrogènes stéroïdes, et notamment des estrogènes synthétiques. Une étude néerlandaise a permis d'estimer la concentration maximale des estrogènes naturels présents dans les eaux usées à environ  $1 \mu\text{g.L}^{-1}$  et des estrogènes synthétiques à  $13,4 \text{ ng.L}^{-1}$  (Blok et Wösten, 2000). Cette concentration a été estimée à partir de la quantité d'eaux usées produites par jour et par personne estimée à 200 L. L'analyse d'influent municipaux a montré des concentrations bien plus basses, de 17 à  $150 \text{ ng.L}^{-1}$  pour les hormones naturelles et de moins de 0,3 à  $5,9 \text{ ng.L}^{-1}$  pour les hormones synthétiques. Cependant, l'analyse ne tenait pas compte des hormones sous forme conjuguée ou éventuellement adsorbées sur des particules en suspension. Outre les hormones stéroïdes, des résidus d'agents de surface, d'esters de l'acide phtalique, et du bisphénol A sont retrouvés dans les rejets domestiques. Ces résidus proviennent des produits domestiques et de soin de la vie courante éliminés avec les eaux usées.

Les rejets industriels sont très rarement pollués par les hormones stéroïdes. En revanche, on y retrouve de nombreuses familles de perturbateurs endocriniens d'origine anthropique. Les agents de surface, les HAP, les retardateurs de flamme bromés, les PCB, les phtalates, et le bisphénol A sont les composés susceptibles d'être présents dans ce type de rejet.

Les rejets agricoles constituent en général une source non ponctuelle de pollution. La contamination des eaux de surface et souterraines s'effectue par le lessivage des sols, et par ruissellement et infiltration de l'eau de pluie. Les pesticides mais aussi les alkylphénols, certains phtalates et retardateurs de flamme, et les HAP sont des perturbateurs endocriniens qui peuvent être présents dans ce type de rejets. L'élevage agricole est, quant à lui, à l'origine de la présence d'estrogènes stéroïdes dans ces effluents.

Dans la littérature, peu d'études se sont intéressées à la concentration des perturbateurs endocriniens dans les rejets industriels ou domestiques. Ces informations sont plutôt obtenues

par des campagnes de prélèvement et d'analyse régionale, nationale ou européenne. La DRIRE de la région Bretagne a effectué de 2003 à 2006 une campagne de prélèvements et d'analyse auprès de 96 établissements bretons afin d'identifier et de quantifier les substances classées dangereuses. Cette campagne a notamment révélé une très forte quantité du plastifiant 2-diéthylhexylphtalate (environ 2,5 kg.j<sup>-1</sup>) dans les rejets de la région.

Pour avoir une estimation du niveau de la pollution générée par les différents acteurs (industrie, collectivités urbaine, rurale et agricole, etc.), il faut s'intéresser aux entrées des stations d'épuration (STEP). A ce niveau, les différents rejets sont réunis, ce qui ne permet plus de vérifier le caractère spécifique de certains polluants vis-à-vis d'un type de rejet. De plus, la concentration des perturbateurs endocriniens sera diminuée par effet de dilution et par le fait que tous les rejets industriels et domestiques n'atteignent pas les stations d'épuration. Sur l'ensemble du réseau d'assainissement breton, le taux de collecte des eaux usées atteignait 80 % en 2002. De la même manière, les sources de pollution non ponctuelles telles que les lessivages ou les eaux de ruissellement et d'infiltration ne seront pas prises en compte, celles-ci atteignant directement les eaux de surface et souterraines. Les pesticides, perturbateurs endocriniens spécifiques à ce type de source, pourront être par conséquent présents à des concentrations minorées à l'entrée de station d'épuration.

Le tableau I.6 présente les concentrations de quelques perturbateurs endocriniens en entrée et en sortie de station d'épuration. Ces études effectuées dans différents pays européens montrent que les produits présents dans les rejets domestiques et industriels sont les plus souvent rencontrés à l'entrée des stations. On remarque que les hormones sont dès l'entrée des stations à des concentrations plus faibles que les autres produits, sans pour autant constituer un danger moins important. C'est la différence qu'il existe entre les rejets industriels et domestiques : les hormones atteignent l'environnement à de faibles concentrations mais ont un potentiel estrogénique très élevé, et inversement pour les produits issus des rejets industriels. Le tableau montre également que les effluents des stations peuvent contenir des résidus à des concentrations parfois élevées. C'est la raison pour laquelle ils sont considérés comme une source majeure de pollution estrogénique pouvant jouer un rôle significatif dans la contamination de l'environnement (Cargouët *et al.*, 2004).

Tableau I.6. Concentration de perturbateurs endocriniens en entrée et en sortie de quelques stations d'épuration

Pays	Station d'épuration	Molécule	Concentrations (ng.L <sup>-1</sup> )		Référence
			Influent (Min-Max)	Effluent (Min-Max)	
Italie		Estrone	15-60	5-30	Lagana <i>et al.</i> , 2004
		Estradiol	10-31	3-8	
		Bisphénol A	332-339	13-36	
Allemagne		Ethinylestradiol	n.r.	n.d.-9	Kuch et Ballschmiter, 2001
		Nonylphénol	n.r.	25-770	
France		Ethinylestradiol	5-7	3-5	Cargouët <i>et al.</i> , 2004
Grèce		Nonylphénol	n.d.-1040	n.d.-900	Stasinakis <i>et al.</i> , 2008
		Bisphénol A	n.d.-2140	n.d.-1100	
		Triclosan	170-23900	n.d.-6880	
Canada	A	Bisphénol A	260-450	90-180	Lee <i>et al.</i> , 2004
		Estradiol	9,6-15	n.d.-4,4	
	B	Bisphénol A	750-1840	140-550	
		Estradiol	14-20	2,7-7,4	
	C	Bisphénol A	2030-28100	50-17300	
		Estradiol	8,7-24	<1-6,8	
	D	Bisphénol A	160-230	10-70	
		Estradiol	14-26	<1-1,7	

n.d. : non détecté ; n.r. : non renseigné

Dans les paragraphes suivants, nous nous sommes intéressés plus spécifiquement à l'origine de deux molécules : le Bisphénol A et l'Ethinylestradiol, deux des composés au plus fort potentiel estrogénique.

### I.2.2.1. Le bisphénol A

Produit en grandes quantités, le Bisphénol A (BPA) est utilisé à plus de 90 % dans l'industrie plastique pour la production de résines polycarbonate, époxy et polyester-styrène insaturé, et de retardateurs de flamme. Les plastiques produits sont utilisés dans les emballages alimentaires tels que le revêtement intérieur des boîtes de conserve, les bouchons de bouteilles et les tuyaux de distribution d'eau. Il est également retrouvé dans les additifs des papiers thermiques, des peintures en poudre, en dentisterie et en tant qu'antioxydant dans les plastiques. Près de 30 % de la production mondiale est européenne, avec environ 210 000 tonnes produits en Allemagne en 1995 (Fromme *et al.*, 2002). Le bisphénol A atteint l'environnement par pertes

durant la fabrication et par relargage des produits finis. Les rejets industriels sont considérés comme la principale cause de la présence de ce micropolluant dans l'environnement.

#### I.2.2.2. L'éthinylestradiol

Les estrogènes synthétiques sont principalement utilisés pour la contraception et les traitements de substitution hormonale. L'éthinylestradiol (EE2), parfois mélangé au mestranol, est le principe actif des pilules contraceptives qui contiennent également un mélange d'estrogène et de progestine. La concentration de l'EE2 dans une pilule varie généralement de 20 à 50 µg et la dose la plus communément prescrite est 35 µg (Birkett et Lester, 2003). Arcand-Hoy *et al.* (1998) ont déterminé la concentration estimée d'introduction (CEI) de l'EE2 dans l'environnement aquatique en s'appuyant sur les quantités de produits pharmaceutiques vendus aux Etats-Unis. La CEI de l'EE2 était de 2,16 ng.L<sup>-1</sup> dans les eaux usées domestiques. Ce calcul donne un ordre de grandeur réaliste puisque des études ont mesuré cette hormone de synthèse dans des eaux usées à des concentrations allant de 0,2 à 7 ng.L<sup>-1</sup> (Desbrow *et al.*, 1998).

#### I.2.3. OCCURRENCE

Les sources non ponctuelles permettent aux polluants d'atteindre directement les eaux souterraines ou de surface, par infiltration des eaux de pluie ou lessivages de sols. C'est le cas pour les pesticides. D'autre part, on peut penser que les rejets pollués non collectés atteignent directement le milieu naturel. Enfin, les stations d'épuration constituent une source supplémentaire de pollution de l'environnement aquatique puisque que certains perturbateurs endocriniens sont retrouvés dans leurs effluents (Tableau I.6). Le milieu récepteur peut être une eau souterraine ou, plus communément, une eau de surface telle que les cours d'eau, les rivières, les estuaires, et le milieu marin. Le comportement des perturbateurs endocriniens dans les eaux réceptrices dépend de leurs propriétés physico-chimiques, du type et de la nature du milieu récepteur (Birkett et Lester, 2003).

Le pouvoir estrogénique des effluents de stations est réduit après rejet dans l'eau réceptrice en raison de la dilution, la biodégradation et l'adsorption des composés perturbateurs endocriniens (Bedding *et al.*, 1983). Concernant les rejets dans les eaux de surface, l'adsorption des polluants sur la phase solide (particules en suspension ou lit de sédiments) participe à la diminution de la concentration dans la phase aqueuse. Les biodégradations en conditions

aérobies sont également à l'origine de l'abaissement des concentrations des micropolluants dans les eaux réceptrices. Ce phénomène reste cependant minoritaire par rapport à la sorption.

Dans une moindre mesure, l'exposition aux rayonnements Ultra Violet peut entraîner une photolyse des composés perturbateurs endocriniens ou ceux-ci peuvent s'évaporer.

L'entrée des perturbateurs endocriniens dans les eaux souterraines s'effectue par percolation ou par recharge. L'adsorption sur la matière organique solide en raison de l'hydrophobie et la faible solubilité des perturbateurs endocriniens cause la baisse de leur concentration dans les volumes d'eau qui percolent. Pour les composés introduits par recharge des eaux souterraines, les comportement et transport dépendent de l'advection, la dispersion, la sorption et la biodégradation des polluants (Birkett et Lester, 2003). Les eaux souterraines ne sont pas dépendantes de la variabilité des conditions extérieures, et de nombreuses transformations peuvent y être ralenties ou inhibées. Les composés présents dans ces eaux seront beaucoup moins sujets à la biodégradation aérobie.

De manière générale, les perturbateurs endocriniens, présents dans les eaux de surface ou souterraines, s'adsorbent en partie aux particules en suspension ou au lit de sédiment. C'est le cas pour les estrogènes stéroïdes, les phtalates, les retardateurs de flamme et autres composés peu polaires. En revanche, les éthoxylates d'alkylphénols sont plus sujets à la biodégradation que les autres familles de perturbateurs endocriniens (Hohenblum *et al.*, 2004). Ces phénomènes contribuent à l'abaissement de la concentration des perturbateurs endocriniens dans le milieu naturel. Néanmoins, ils ne les éliminent pas totalement et ne les réduisent pas à des concentrations inférieures aux seuils de perturbation endocrine.

Quelques études montrent les concentrations des perturbateurs endocriniens dans les milieux naturels, points de départ de la production de l'eau destinée à la consommation humaine. En 2004, Lagana *et al.* ont déterminé les concentrations de certains micropolluants dans le Tibre en Italie. Les concentrations médianes du bisphénol A et du nonylphénol mesurées étaient de 22 et 1364 ng.L<sup>-1</sup>, respectivement (Tableau I.7). Pour celles des estrogènes, phytoestrogènes et mycoestrogènes, les valeurs bien moins élevées (1 à 8 ng.L<sup>-1</sup>) restent problématiques compte tenu de la forte activité biologique de ce type de composés. L'activité estrogéniques des hormones a été montrée à ces concentrations (Petersen *et al.*, 2001). La forte valeur obtenue pour le nonylphénol est attribuée, en amont, à la forte consommation, de produits détergents dans les domaines domestique et industriel. De plus, dans la station d'épuration étudiée, le nonylphénol n'est éliminé qu'à 75 %, du fait d'une résistance naturelle à

la dégradation microbienne. En aval, il est possible que le rejet d'eaux usées directement dans la rivière soit une des raisons de cette forte pollution.

Tableau I.7. Concentrations de différents perturbateurs endocriniens déterminées dans le Tibre en Italie (Lagana *et al.*, 2004)

Molécule	Famille	Concentrations (ng.L <sup>-1</sup> )	
		Min-Max	Médianes
Estrone		5-12	8
Estradiol	Estrogènes naturels	2-6	4
Estriol		2-5	3
Ethinylestradiol	Estrogènes synthétiques	n.d.-1	1
Bisphénol A	Plastifiants	15-29	22
Nonylphénol	Agents de surface	1289-1466	1364
Daidzéine		2-3	2
Génistéine	Phytoestrogènes	4-7	5
Biochamin A		1-2	1
Zéaralénone		2-5	3
$\alpha$ -Zéaralanol	Mycoestrogènes	n.d.-3	1
$\beta$ -Zéaralanol		n.d.-3	1

n.d. : non détecté

Une étude française a montré en 2006 que malgré le phénomène de dilution dû au rejet des effluents de station épuration dans trois rivières de la région d'Ile-de-France, les concentrations rencontrées ne sont pas négligeables (Branchereau *et al.*, 2006). Parmi les phtalates, le di-2-éthylhexylphtalate est le plus fréquemment détecté dans les cours d'eau, avec une concentration maximale de 1,4  $\mu\text{g.L}^{-1}$  (Tableau I.8). Et les nonylphénols sont retrouvés avec une concentration maximale du même ordre. Les concentrations des hormones synthétiques et naturelles sont, comme dans d'autres études, bien inférieures à celles des plastifiants ou des surfactants. Lors de la campagne de prélèvement et d'analyse de Branchereau *et al.* (2006), l'éthinylestradiol n'a été détecté dans aucune rivière, et le 17 $\alpha$ -estradiol était quasi absent de ces cours d'eau. L'estrone était l'hormone stéroïde la plus détectée avec une concentration maximale de 1 ng.L<sup>-1</sup>. On retrouve pour les hormones et le nonylphénol les mêmes tendances que dans l'étude précédente, avec des concentrations plus faibles pour les hormones.

Tableau I.8. Concentration de phtalates, nonylphénols et estrogènes stéroïdes dans la Seine, la Marne et l'Oise (Branchereau *et al.*, 2006)

Molécule	Seine		Marne		Oise	
	% de mesures > l.q.	Concentration maximale (µg.L <sup>-1</sup> )	% de mesures > l.q.	Concentration maximale (µg.L <sup>-1</sup> )	% de mesures > l.q.	Concentration maximale (µg.L <sup>-1</sup> )
	27 analyses		20 analyses		25 analyses	
DEHP	22	0,4	35	1,4	20	0,5
BBP	0	n.d.	10	0,5	8	0,8
DBP	4	0,2	0	n.d.	4	0,3
DEP	0	n.d.	5	0,2	0	n.d.
NP	4	0,2	23	1,3	20	0,4
	10 analyses		10 analyses		6 analyses	
17β-E2	40	0,0002	40	0,0002	33	0,0002
17α-E2	0	n.d.	0	n.d.	20	0,0001
E1	100	0,0007	100	0,001	100	0,0009
EE2	0	n.d.	0	n.d.	0	n.d.

n.d. : non détecté

DEHP : Diéthylhexylphtalate ; BBP Butylbenzylphtalate ; DBP : Dibutylphtalate ; DEP : Diéthylphtalate NP : Nonylphénol ;

E1 : Estrone ; 17α-E2 : 17α-Estradiol ; 17β-E2 : 17β-Estradiol ; EE2 : Ethinylestradiol

Les concentrations des hormones estrogéniques sont souvent les plus faibles dans les eaux de surface, parfois à des concentrations en dessous des limites de détection des appareils de mesure. Néanmoins, leur fort pouvoir estrogénique les rend tout aussi problématiques que les autres classes de perturbateurs endocriniens. Elles font donc très souvent partie des produits recherchés dans l'environnement aquatique. Le tableau I.9 montre les résultats obtenus de différentes études effectuées en Europe et dans le monde.

Tableau I.9. Concentrations d'hormones estrogéniques dans quelques eaux de surfaces

Pays	Concentration (ng.L <sup>-1</sup> ) Min-Max				Référence
	Estrone	Estradiol	Estriol	Ethinylestradiol	
Italie	1,5	0,11	0,33	0,04	Baronti <i>et al.</i> , 2000
Allemagne	0,1-4,1	0,15-3,6	-	0,1-5,1	Kuch et Ballschmiter, 2001
France	1,1-3,0	1,5-3,2	1,0-2,5	1,1-2,9	Cargouët <i>et al.</i> , 2004
Pays-Bas	<0,1-3,4	<0,3-5,5	-	<0,1-4,3	Belfroid <i>et al.</i> , 1999
Etats Unis	-	-	<0,107-2,67	<0,053-0,52	Snyder <i>et al.</i> , 1999

- : non analysé

En 2002 en France, les eaux souterraines représentaient 70 % du volume total capté pour la production d'eau potable. Ces mêmes eaux représentaient 60 % des prélèvements pour

lesquels des dépassements des valeurs limites en pesticides ont été détectés. La pollution des eaux souterraines causée par les infiltrations dans le sous-sol est qualifiée de lente et durable, contrairement au cas des eaux de surface dans lesquelles les polluants sont plus rapidement rejetés. Une nappe fortement contaminée peut le rester plusieurs années. Néanmoins, le niveau de pollution des eaux souterraines est en général moins élevé que celui des eaux de surface. En effet, les volumes d'eau, et donc la quantité de polluants, qui atteignent les aquifères par infiltration sont moins importants que ceux qui atteignent les rivières. De plus, l'eau de pluie est en quelque sorte filtrée par le sol avant d'atteindre les eaux souterraines. De ce fait, ces polluants organiques, de nature hydrophobe, peuvent s'adsorber dans les sols durant l'infiltration. Par conséquent, l'eau souterraine captée pour la production d'eau potable est souvent soumise à des traitements moins poussés que les eaux de surface. En Bretagne, la tendance est inversée : plus de 70 % des volumes pompés pour la production d'eau potable proviennent des eaux de surface.

Rodriguez-Mozaz *et al.* (2004a) ont identifié certains pesticides et le bisphénol A dans une eau souterraine destinée à la production d'eau potable (Tableau I.10). Les concentrations du bisphénol A variaient de 5 à 7 ng.L<sup>-1</sup> alors que celles des pesticides atteignaient 153 ng.L<sup>-1</sup>. Ces fortes concentrations de pesticides proviennent probablement de l'infiltration des eaux de pluies dans les sols agricoles. Quant au bisphénol A, il s'agit d'un polluant que l'on retrouve plutôt dans les rejets industriels et donc dans les influents des stations d'épuration ou éventuellement dans les eaux de surface. Il est donc en faibles quantités dans ces eaux souterraines.

Tableau I.10. Concentrations (en µg.L<sup>-1</sup>) de pesticides et du bisphénol A dans une eau souterraine espagnole (Rodriguez-Mozaz *et al.*, 2004a)

Molécule	Février	Avril	Mai	Juin	Juillet	Août
Diuron	n.d.	4	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Deséthylatrazine	3	3	n.d.	2	2	2
Atrazine	9	14	n.d.	7	n.d.	8
Simazine	22	73	30	153	n.d.	144
Bisphénol A	7	n.d.	n.d.	5	n.d.	n.d.

n.d. : non détecté

Hohenblum *et al.*, (2004) ont mesuré et comparé les concentrations d'estrogènes stéroïdes, de surfactants, et d'un plastifiant dans une eau de surface et une eau souterraine autrichiennes, toutes deux situées dans la même zone. Vingt-sept points de prélèvement ont été sélectionnés pour l'eau de surface, et pour chaque point entre 6 et 12 prélèvements ont été



effectués. De même, 59 points de prélèvement pour l'eau souterraine, à chacun desquels 3 échantillons ont été prélevés, et 8 sources naturelles, avec au moins 2 échantillons prélevés par source, ont été sélectionnés. Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau I.11. On remarque que l'estrone, le 17 $\beta$ -estradiol, le nonylphénol et quelques uns de ses dérivés ont été détectés dans plus de 50 % des échantillons d'eau de surface prélevés. L'éthinylestradiol n'a été détecté que dans 2 % des échantillons avec une concentration maximale de 0,33 ng.L<sup>-1</sup>.

Tableau I.11. Concentrations d'estrogènes stéroïdes, d'agents de surface et du bisphénol A dans une eau de surface et une eau souterraine autrichiennes (Hohenblum *et al.*, 2004)

Molécules	Nombre de mesures		% de mesures > l.q.		Concentration maximale (ng.L <sup>-1</sup> )	
	Eau de surface	Eau souterraine	Eau de surface	Eau souterraine	Eau de surface	Eau souterraine
Estrone	243	109	76	18	4,6	1,6
17 $\alpha$ -estradiol	261	112	7	4	0,31	0,21
17 $\beta$ -estradiol	250	112	60	52	1,2	0,79
Estriol	261	112	8	2	1,9	0,16
Ethinylestradiol	261	112	2	1	0,33	0,94
Nonylphénol	261	110	53	70	890	1500
Monocarboxylate de nonylphénol	261	112	9	32	2200	260
Dicarboxylate de nonylphénol	261	112	78	13	1700	110
Octylphénol	261	112	0,4	4	41	42
Bisphénol A	260	111	22	59	600	930

Dans l'eau souterraine, on trouve une tendance proche de celle des eaux de surface. Le 17 $\beta$ -estradiol, le nonylphénol et quelques uns de ses dérivés sont les molécules les plus retrouvées. En revanche, on note une inversion de tendance pour l'estrone et le bisphénol A.

Le nonylphénol est cette fois l'agent de surface le plus détecté et le plus concentré. Les concentrations des agents de surface dans les eaux analysées peuvent être dues aux dégradations aérobie et anaérobie des éthoxylates de nonylphénol. Dans l'eau de surface, en conditions aérobies, la dégradation conduit à la formation de carboxylates. Dans l'eau souterraine, en conditions anaérobies, la dégradation conduit à la formation d'éthoxylates de nonylphénol, et à terme de nonylphénol (Hohenblum *et al.*, 2004).

Ceci montre que dans la zone étudiée, l'eau de surface et l'eau souterraine sont touchées de la même façon par la pollution et confirme que l'eau souterraine est globalement moins polluée que l'eau de surface.

### I.2.3.1. Autres pollutions détectées

Les polluants organiques hydrophobes ont une faible solubilité dans l'eau et ont la tendance, dans le milieu naturel, à s'adsorber aux particules en suspension. Ce phénomène explique leur présence dans les couches sédimentaires du lit des rivières. L'adsorption sur les particules venant du sol fait d'ailleurs partie des moyens de transport de la pollution depuis les sols agricoles jusqu'aux rivières. Les pesticides déposés sur les sols s'y adsorbent. Par lessivage ces particules sont déplacées jusqu'au milieu récepteur.

Le bisphénol A, certains phtalates, HAP, PCB, retardateurs de flamme et agents de surface ont été détectés dans des sédiments. Les concentrations mesurées allaient de 0,01 mg.kg<sup>-1</sup> pour le bisphénol A à 25 mg.kg<sup>-1</sup> pour certains agents de surface (Birkett et Lester, 2003). D'autres études ont quantifié des estrogènes stéroïdes (Pojana *et al.*, 2007) et des pesticides (Xue *et al.*, 2005) dans des sédiments. Les concentrations mesurées étaient comprises entre 12 et 155 µg.kg<sup>-1</sup> (en équivalents estradiol) et 3,48 et 3310 ng.kg<sup>-1</sup>, respectivement. D'autres études ont permis de comprendre ce phénomène. Ying *et al.* (2003) ont montré que l'adsorption de certains perturbateurs endocriniens peut être corrélée à l'hydrophobie des composés étudiés.

La présence de certains perturbateurs endocriniens a également été détectée dans l'air et la poussière. Brown *et al.* (1996) ont trouvé 23 HAP contenus dans l'air extérieur. Leur étude a révélé la présence de ces composés à des concentrations allant de 0,13 ng.m<sup>-3</sup> à 12,2 µg.m<sup>-3</sup>. Rudel *et al.* (2003) ont recherché des alkylphénols et leurs éthoxylates, des phtalates, des parabènes, des HAP, des PCB et PBDE, des pesticides et des composés phénoliques dans l'air intérieur et la poussière de 120 maisons. Sur 89 composés perturbateurs endocriniens recherchés, 52 ont été détectés dans l'air et 66 dans la poussière, avec des concentrations moyennes de 0,10 à 590 ng.m<sup>-3</sup> et 0,279 à 45,4 µg.g<sup>-1</sup>, respectivement. Les concentrations les plus élevées ont été mesurées pour des phtalates.

### I.3. COMPORTEMENT ET DEVENIR DANS LES FILIERES DE TRAITEMENTS

#### I.3.1. DANS LES STATIONS D'EPURATION

Une station d'épuration collecte les eaux usées puis leur fait subir plusieurs phases de traitement pour ensuite réintégrer l'eau traitée dans l'environnement aquatique. De manière générale, trois types de traitement se succèdent : les prétraitements, les traitements physico-chimiques, et les traitements biologiques (Figure I.1).

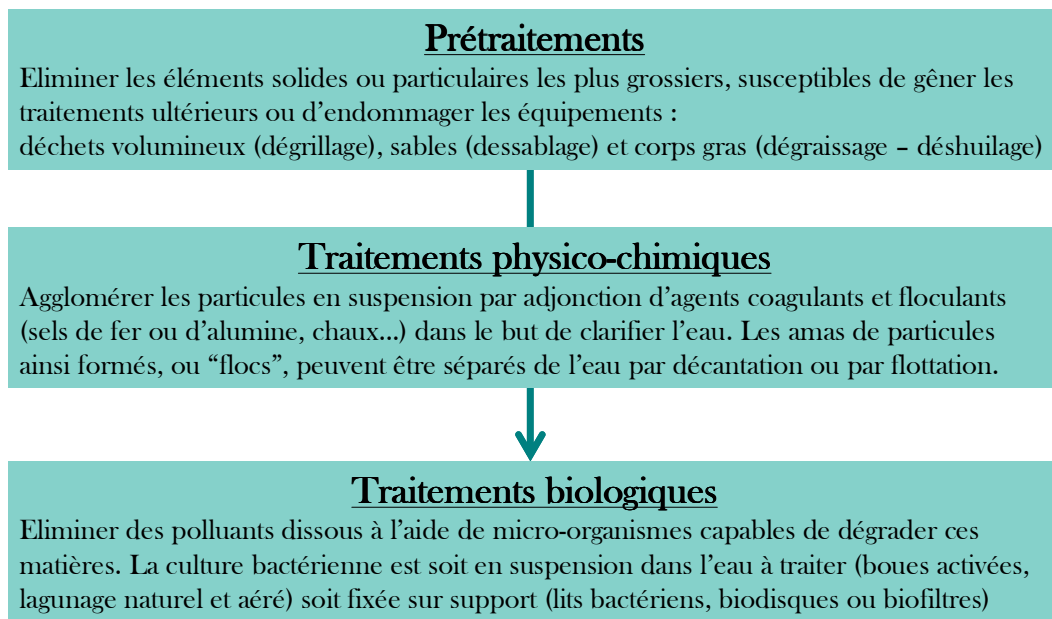


Figure I.1. Traitements appliqués à l'eau en station d'épuration

##### I.3.1.1. Comportement des perturbateurs endocriniens

Le comportement des perturbateurs endocriniens au sein des stations d'épuration dépend de leurs propriétés physico-chimiques. La solubilité, les coefficients de partage octanol/eau ( $K_{ow}$ ) et de partage carbone organique/eau ( $K_{oc}$ ), peuvent avoir une influence sur le partage et l'adsorption d'un composé durant le traitement. La constante de Henry ( $H_c$ ) correspond à leur potentiel de volatilisation et est indicatrice de leur possibilité d'évaporation. Il existe 4 voies principales possibles d'élimination des composés organiques durant le traitement des eaux usées (Birkett et Lester, 2003):

- l'adsorption sur les particules solides en suspension ou l'association aux graisses et huiles,
- la biodégradation aérobie et anaérobie,
- la dégradation chimique (abiotique) générée par des réactions telles que l'hydrolyse,
- la volatilisation.

Les propriétés physico-chimiques d'un composé peuvent permettre de prédire la voie d'élimination majoritaire.

### *Adsorption*

Les boues d'épurations sont un mélange complexe de graisses, protéines, acides aminés, sucres, hydrates de carbone (saccharides), celluloses, matière humique et acides gras. Dans les boues secondaires de la filière de traitement des eaux usées, les grandes quantités de microorganismes, vivants ou morts, apportent à l'ensemble une importante surface spécifique (0,8 à 1,7 m<sup>2</sup>.g<sup>-1</sup>) (Rogers, 1996). Les perturbateurs endocriniens s'adsorbent préférentiellement sur ces particules en suspension, du fait de leurs propriétés hydrophobes. Le Log K<sub>ow</sub>, qui est un indicateur de l'hydrophobie d'une molécule, peut être utilisé pour estimer l'adsorption de ces composés organiques. On peut prédire un fort potentiel d'adsorption pour les composés possédant une valeur du Log K<sub>ow</sub> supérieure à 4 (Rogers, 1996). Pour ce type de composés, la voie principale d'élimination est l'adsorption aux boues déposées et aux particules en suspension.

Il est également possible que les polluants s'adsorbent en partie sur les graisses et lipides dans les eaux brutes. Les rejets domestiques contiennent généralement ce type de composés. Enfin, l'adsorption sur des solides biologiques et inorganiques est un mécanisme d'élimination important. L'adsorption sur la matière vivante est souvent la première étape de la dégradation biologique de ces molécules (Birkett et Lester, 2003).

### *Dégradations biologique et chimique*

La dégradation biologique a lieu, dans des conditions aérobies, par oxydation biologique dans les boues activées et, dans des conditions anaérobies, dans les égouts ou les digesteurs de boues. De nombreux facteurs chimiques, tels que les propriétés structurales, et environnementaux (nature et concentration des matières dissoutes et en suspension, la température, le degré d'ensoleillement, etc.) peuvent avoir une influence sur la biodégradation

(Alcock *et al.*, 1999). En général, les molécules constituées de chaînes hydrocarbure très ramifiées sont moins facilement biodégradables que celles constituées de chaînes non ramifiées (Birkett et Lester, 2003).

Contrairement aux composés naturels, les polluants anthropiques ont tendance à montrer plus de résistance à la biodégradation. Ce phénomène est partiellement dû au fait que les microorganismes ne possèdent pas l'équipement enzymatique adéquat. Une période d'acclimatation est donc requise pour la dégradation de tels composés (Birkett et Lester, 2003).

De même que les microorganismes, certaines réactions chimiques peuvent être à l'origine de la dégradation de perturbateurs endocriniens. L'hydrolyse est en général la transformation chimique la plus importante. La déhalogénéation réductrice est une réaction de dégradation importante pour les composés chlorés et bromés tels que les PCB et possiblement pour les diphenyléthers polybromés (PBDE) (Birkett et Lester, 2003). Le pH, la température, l'humidité et la matière inorganique peuvent également avoir un effet sur le taux de la dégradation chimique (Alcock *et al.*, 1999).

### *Volatilisation*

La volatilisation est le transfert d'un composé de la phase aqueuse vers l'atmosphère. Il peut avoir lieu à la surface des liquides contenus dans des cuves ouvertes, telles que les clarificateurs. Cependant, la majorité des pertes a lieu durant l'étape d'aération. Une partie de composés peut également être perdue durant le traitement des boues, lors de la déshydratation ou l'épaississement, en particulier si les boues sont aérées ou agitées. L'étape de traitement par les boues activées est aussi propice à la volatilisation des micropolluants. Les composés non polaires de faible masse moléculaire, solubilité et pression de vapeur sont connus pour se volatiliser dans l'atmosphère durant l'aération lors du traitement des eaux usées (Byrns, 2001). En revanche, les composés dont le  $\text{Log } K_{ow}$  est inférieur à 2 ne passent pas dans l'atmosphère pas dans les conditions des stations d'épuration, leur importante solubilité inhibe le phénomène de volatilisation. La constante de Henry ( $H_c$ ) permet de prédire les pertes par volatilisation. De manière générale, les composés montrant une  $H_c$  supérieure à  $10^{-3} \text{ atm}\cdot\text{m}^3\cdot\text{mol}^{-1}$  peuvent être emportés par l'aération (Birkett et Lester, 2003). De ce fait, pour ces composés, l'aération peut être vue comme une source diffuse de perturbateurs endocriniens dans l'atmosphère. Néanmoins, le phénomène de volatilisation reste minoritaire dans le mécanisme global d'élimination des perturbateurs endocriniens dans les stations d'épuration.

## I.3.1.2. Devenir des perturbateurs endocriniens

Les mécanismes d'élimination et les voies de biotransformation sont variables selon le groupe de composés perturbateurs endocriniens et sont déterminés par leurs propriétés physiques et chimiques. Le tableau I.12 regroupe les principaux mécanismes d'élimination déterminés à partir des propriétés physiques et chimiques des quelques familles de molécules.

Tableau I.12. Principaux mécanismes d'élimination des perturbateurs endocriniens durant le traitement des eaux usées

Molécules	Principaux mécanismes d'élimination
Polyéthoxylates de nonylphénol	Adsorption
Stéroïdes	Dégradation
Organochlorés	Adsorption
Lindanes	Dégradation
Triazines	Adsorption Dégradation
Biphényles polychlorés	Adsorption
Organoétains	Adsorption
Phtalates	Biodégradation
Hydrocarbures polycycliques aromatiques	Adsorption durant traitement primaire Volatilisation/biodégradation durant le traitement secondaire

Nous discuterons ici du devenir des estrogènes stéroïdes, des alkylphénols et de leurs dérivés, et du bisphénol A.

*Estrogènes stéroïdes*

Les hormones stéroïdes sont généralement excrétées sous forme conjuguées. Par exemple, le 17 $\beta$ -estradiol atteint les stations d'épuration majoritairement sous forme conjuguée glucuronide ou sulfate via les urines ou les fèces. La glucuroconjugaison est le mécanisme principal de conjugaison lors de la métabolisation. Le composé actif subit une réaction avec l'acide glucuronique, le but étant de le rendre hydrosoluble en vue de son élimination. Cette réaction a également la propriété de rendre la molécule inactive. Il est excrété sous cette forme et n'est pas fragmenté dans les rejets domestiques. L'hormone estrogène est excrétée sous la forme du 17 $\beta$ -estradiol-17-glucuronide et du 17 $\beta$ -estradiol-3-glucuronide qui ne seront fragmentés qu'une fois au contact des boues pour former le 17 $\beta$ -estradiol (E2) (Johnson et Williams, 2004; Deborde, 2006). On peut ainsi détecter non seulement une hausse de

concentration de l'hormone mais aussi une augmentation de l'activité estrogénique des eaux traitées. Ensuite, l'estradiol subit une autre oxydation pour finalement donner l'estrone. Le 17 $\alpha$ -éthinyloestradiol, polluant anthropique, est plus difficile à éliminer. Le groupement éthynyl donne à la molécule un caractère très persistant. De plus, le mestranol, un autre estrogène de synthèse utilisé en contraception orale et dans les traitements de substitution hormonale, se dégrade en 17 $\alpha$ -éthinyloestradiol (Ternes *et al.*, 1999a).

Ces observations peuvent expliquer les concentrations rapportées par Tan *et al.*, (2007) pour le 17 $\beta$ -estradiol et l'estrone dans deux stations d'épuration australiennes. Le tableau I.13 montre tout d'abord que la concentration, plutôt faible, du 17 $\beta$ -estradiol dans les influents est multipliée par un facteur 8 à 10 au cours du traitement biologique. Elle est ensuite éliminée au fur et à mesure des traitements. La fragmentation dans le bioréacteur est à l'origine de la hausse de la concentration.

Egalement, la concentration de l'estrone est multipliée par 4 à 5 après le passage dans le bioréacteur. Cette augmentation est une indication de l'oxydation du 17 $\beta$ -estradiol. L'estrone est ensuite éliminée dans le reste de la filière. Des résultats similaires ont été obtenus par Andersen *et al.* (2003) pour une station d'épuration du même type.

Tableau I.13. Concentration des estrogènes stéroïdes naturelles dans deux stations d'épuration Tan *et al.* (2007)

Station d'épuration	Estrone (ng.L <sup>-1</sup> )		17 $\beta$ -estradiol (ng.L <sup>-1</sup> )	
	A	B	A	B
Influent	13,1	1,7	16,6	3,2
Bioréacteur (anaérobie)	58,5	-	123	-
Bioréacteur (aérobie)	95,3	-	50,5	-
Bioréacteur	-	8,6	-	31,3
Clarificateur	107	6,2	19,7	27
Effluent	41,9	n.d.	1,6	n.d.
Rivière au point de rejet	21,2	-	10,1	-

n.d. : non détecté ; - : non concerné ou non renseigné

Les rendements d'élimination des estrogènes naturels et synthétique sont variables. Andersen *et al.* (2003) obtiennent dans leur étude un rendement supérieur à 98,5 % pour l'estrone, supérieur à 93,7 % pour le 17 $\beta$ -estradiol, et supérieur à 87,8 % pour le 17- $\alpha$ -éthinyloestradiol. Tandis que pour Cargouët *et al.* (2004), l'élimination des mêmes hormones est moins forte. Les rendements obtenus pour quatre stations d'épuration (traitement secondaire

par boues activées) vont de 33 % pour le 17- $\alpha$ -éthinyloestradiol à 67 % pour l'estriol. Notons que quelle que soit l'étude, le 17 $\alpha$ -éthinyloestradiol, l'hormone la plus active, reste l'estrogène le plus difficile à éliminer.

### *Alkylphénols et bisphénol A*

Les agents de surface qui sont au centre des préoccupations vis-à-vis de la perturbation endocrine sont les éthoxylates d'alkylphénols (APEO) et leurs produits de dégradation, alkylphénols (AP) et carboxylates d'alkylphénols (APEC) ; tous ces composés ont montré une activité estrogénique (Routledge et Sumpter, 1997; Routledge *et al.*, 1998). En conditions aérobies, la réduction oxydative de la taille des chaînes polyéthoxylate s'effectue facilement et rapidement. Cependant la minéralisation complète est limitée par la présence de groupements alkyl très ramifiés sur le cycle phénolique. La chaîne hydrophile des composés éthoxylés constitue une source de nutriments pour les bactéries. Elle est consommée par dégradation successive des motifs éthoxy (Birkett et Lester, 2003). Le raccourcissement de la chaîne conduit à la formation d'intermédiaires plus réfractaires aux bactéries tels que les mono- et diéthoxylates d'alkylphénols et les mono et dicarboxylates d'alkylphénols. Une dernière biodégradation des métabolites, si elle a lieu, s'opère plus lentement en raison de la présence du cycle benzénique et de leur solubilité limitée.

De la même façon que pour les estrogènes stéroïdes, la concentration de certains alkylphénols et dérivés peut augmenter au sein de la station d'épuration, du fait de la dégradation des éthoxylates d'alkylphénols. Sole *et al.* (2000) ont suivi l'évolution des concentrations du nonylphénol (NP), de carboxylates de nonylphénol (NPEC) et d'éthoxylates de nonylphénol (NPEO) dans quatre stations d'épuration possédant toutes un traitement par boues activées. Une station a montré pour le NP et les NPEC des concentrations plus élevées dans les effluents que dans les influents.

Lee *et al.* (2004) ont observé le même comportement pour le nonylphénol et ses dérivés, ainsi que pour l'octylphénol et un de ses dérivés traités dans 4 stations d'épuration. Des rendements d'élimination négatifs très élevés pour les dérivés carboxylés des deux composés, de -302 à -973 % pour le NPEC et de -271 à -2044 % pour l'OPE<sub>1</sub>C ont été obtenus. En revanche, pour les agents de surface du type alkylphénols, les rendements d'élimination sont positifs. Néanmoins ces composés ne sont pas totalement éliminés dans les stations d'épuration. Lee *et al.* (2004) montrent des rendements moyens de 77 % et 85 % pour le nonylphénol et l'octylphénol, respectivement. Le même constat peut être effectué pour l'efficacité d'élimination



d'agents de surface phénoliques de deux stations d'épuration allemandes. Höhne et Püttmann (2008) montrent des rendements moyens de 76 et 88,5 % pour le nonylphénol et l'octylphénol, respectivement.

Le bisphénol A est en théorie facilement biodégradable. Il possède une solubilité suffisante pour être en grande partie dans la phase aqueuse et être assujéti à la biodégradation. Egalement, l'absence de longues chaînes alkyl ramifiées permet de prédire un fort potentiel d'élimination. Dans les faits, l'élimination du bisphénol A est variable. Lee *et al.* (2004) ont déterminé un rendement de 55 à 99 % sur les quatre stations étudiées. Sur les cinq stations d'épuration étudiées, Tan *et al.*, (2007) ont noté un rendement d'élimination très variable allant de 38 à 99 %. Les stations d'épuration des deux études présentaient des traitements secondaires similaires (boues activées). Le bisphénol A semble donc en moyenne plus difficile à éliminer que les alkylphénols et leurs dérivés.

#### I.3.1.3. Conclusion

Une large partie des perturbateurs endocriniens sont retrouvés à l'entrée des stations d'épuration. Les rejets domestiques et industriels y étant collectés, les hormones naturelles et synthétiques, les plastifiants et les agents de surface font partie des produits traités dans ces installations. L'efficacité d'élimination des stations d'épuration a été montrée par plusieurs études, pour les différentes familles de composés. La pollution est diminuée globalement et significativement, néanmoins toutes les molécules ne réagissent pas de la même façon au traitement et des différences ont été constatées. La concentration de certaines hormones et agents de surface peut augmenter dans la filière de traitement en raison de la dégradation des produits parents. Et le taux d'élimination de certains plastifiants peut varier fortement d'une station d'épuration à l'autre. Bien qu'il semble que le traitement biologique joue un rôle important dans l'abattement de la concentration des perturbateurs endocriniens, l'élimination de la pollution est rarement totale et les effluents des stations d'épuration ne sont pas exempts de résidus bioactifs.

### I.3.2. DANS LES USINES DE PRODUCTION D'EAU POTABLE

L'eau de surface ou souterraine (eau brute) est captée et subit plusieurs phases de traitement en usine de production d'eau potable avant la distribution.

Nous invitons le lecteur intéressé pour trouver une description exhaustive des procédés de traitement à consulter la littérature (Masschelein, 1996).

Connaissant le niveau de pollution potentiel des eaux de surface et souterraine, ressources utilisées pour la production d'eau potable, il est essentiel de s'assurer de l'efficacité des traitements existants. Néanmoins, il existe peu d'études sur l'efficacité d'élimination des perturbateurs endocriniens des filières d'eau potable. Les études présentes dans la littérature sont de deux types : certaines déterminent la concentration des perturbateurs endocriniens en sortie de filière alors que d'autres évaluent l'efficacité des différents traitements de la filière, en laboratoire ou directement sur site.

#### I.3.2.1. Concentrations des perturbateurs endocriniens en sortie de filière d'eau potable

Peu d'études sur l'efficacité de la filière de traitement d'eau potable vis-à-vis des perturbateurs endocriniens ainsi que leur concentration dans l'eau avant la distribution existent dans la littérature. Le tableau I.14 montre la concentration de quelques composés représentatifs dans les eaux potables européennes.

Les concentrations déterminées varient d'un pays à l'autre. En Espagne, Casajuana et Lacorte (2003) ont obtenu des concentrations de plastifiants élevées. L'eau qu'ils ont analysée provenait d'une fontaine publique, approvisionnée par un aquifère. Selon les auteurs, cet aquifère était situé près d'une rivière dans laquelle des eaux usées domestiques et industrielles non traitées étaient rejetées. L'eau captée de cet aquifère subissait une chloration et était ensuite stockée puis distribuée au moyen de tuyaux majoritairement en polyéthylène.

Grâce une méthode d'analyse possédant des limites de détection comprises entre 20 et 100 pg.L<sup>-1</sup>, Kuch et Ballschmiter (2001) ont pu déterminer la concentration de perturbateurs endocriniens représentatifs dans l'eau potable. L'eau de surface utilisée pour la production de l'eau potable analysée, et les effluents d'une station d'épuration qui y sont rejetés ont également été étudiés : les mêmes composés, plus concentrés, y ont été quantifiés.

Tableau I.14. Concentration en ng.L<sup>-1</sup> de certains perturbateurs endocriniens dans l'eau potable

Pays	4NP	4OP	BPA	E1	E2	EE2	DEHP	Références
Allemagne	8,0	2,0	1,1	0,4	0,7	0,35	-	Kuch et Ballschmiter, 2001
Espagne	< 20	< 20	-	-	-	-	-	Petrovic <i>et al.</i> , 2001
Espagne	24	-	18	-	-	-	331	Casajuana et Lacorte, 2003
Espagne	-	-	5	-	-	-	-	Rodriguez-Mozaz <i>et al.</i> , 2004a
Etats Unis	110	-	< 5	< 0,2	< 0,5	< 1	-	Benotti <i>et al.</i> , 2009

4NP : 4-Nonylphénol ; 4-OP : 4-Octylphénol ; BPA : Bisphénol A ; E1 : Estrone ; E2 : Estradiol ; EE2 : Ethinylestradiol ; DEHP : Diéthylhexylphthalate

Les concentrations des perturbateurs endocriniens à la sortie des usines de production d'eau potable sont très faibles ; des techniques d'analyse poussées sont parfois nécessaires pour fournir les informations recherchées. Les limites de quantification des méthodes d'analyse chimique sont sans cesse repoussées dans la mesure où certains perturbateurs endocriniens sont bioactifs à des concentrations inférieures à 1 ng.L<sup>-1</sup> pour des expositions longues (Purdom *et al.*, 1994; Metcalfe *et al.*, 2001; Petersen *et al.*, 2001), et que la bioconcentration de ces polluants organiques dans l'organisme (Snyder *et al.*, 2001) ainsi qu'un effet additif voire synergique du mélange de ces produits (Silva *et al.*, 2002; Chen *et al.*, 2007) ont été montrés.

En complément de l'analyse chimique des eaux potables, quelques études biologiques ont été effectuées. Cargouët *et al.* (2007) ont étudié le potentiel estrogénique des influents (la Seine et la Marne) et effluents de trois usines de production d'eau potable parisiennes à l'aide de tests *in vivo*. Ils se sont notamment intéressés au potentiel estrogénique de sous produits éventuellement formés durant les procédés de désinfection. L'entrée comme la sortie des stations de production n'ont pas généré d'induction de VTG chez les poissons zèbres males, et ont donc été considérées exemptes de composés perturbateurs endocriniens. Une étude similaire a été effectuée récemment (Jugan *et al.*, 2009). Cette fois encore, les tests *in vivo* ont montré que l'eau potable produite par les usines étudiées ne causait pas de perturbation de la fonction endocrine.

### I.3.2.2. Efficacité d'élimination des procédés de traitement de la filière eau potable

D'autres auteurs ont suivi l'évolution de la concentration de quelques perturbateurs endocriniens après chaque étape de la filière de traitement. Stackelberg *et al.* (2007) ont étudié l'efficacité d'élimination d'une usine de production d'eau potable vis-à-vis de 113 composés organiques, dont des agents de surface, des plastifiants, et des pesticides (Tableau I.15). Pour les perturbateurs endocriniens étudiés, les auteurs ont observé des rendements d'élimination

globaux allant de 73 à 100 %. Les produits les plus persistants étaient le bisphénol A et certains agents de surface, dont l'activité estrogénique est avérée. Cependant, les niveaux de concentration détectés dans les effluents étaient globalement inférieurs à ceux susceptibles d'engendrer des effets.

Le traitement par adsorption sur charbon actif en grain a permis d'atteindre un abattement de 53 % des produits étudiés, la désinfection en a dégradé 32 %, et la clarification était responsable de 15 % des molécules éliminées. Ces résultats sont cohérents avec les conclusions tirées d'études antérieures (Ternes *et al.*, 2002; Westerhoff *et al.*, 2005). Un rendement nul pour l'élimination du nonylphénol pendant l'étape de filtration sur lit de charbon actif a été obtenu. Une explication pourrait être que la dégradation d'éthoxylates de nonylphénol produirait du nonylphénol à cette étape du traitement. De même pour les éthoxylates de nonylphénol et d'octylphénol, ils sont totalement éliminés par la filtration sur charbon et les réactions de dégradation produisent la quantité qui est mesurée en sortie d'usine. Il semblerait donc que les agents de surface soient totalement éliminables ou dégradables dans les filières d'eau potable. Les réactions de dégradation seraient à l'origine de la formation de certains polluants au cours du traitement et donc entraîneraient des rendements globaux d'élimination inférieurs à 100 %.

Tableau I.15. Concentration et rendement d'élimination de perturbateurs endocriniens à différentes étapes de la station de la production d'eau potable (Stackelberg *et al.*, 2007)

Molécule	Concentration ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) (Rendement d'élimination %)					Rendement global d'élimination
	Eau brute	Clarification	Désinfection	Filtration charbon actif	Eau potable	
<i>Agents de surface</i>						
OP1EO	0,079	0,0783 (0,9)	n.d. (100,0)	n.d.	n.d.	100
NP1EO	1,192	0,858 (28,0)	0,592 (31,0)	n.d. (100,0)	0,192	84
OP2EO	0,038	0,017 (55,3)	0,015 (11,8)	n.d. (100,0)	0,010	74
NP	0,342	0,342 (0)	0,100 (70,8)	0,108 (0)	0,092 (14,8)	73
<i>Plastifiants</i>						
Bisphénol A	0,107	0,108 (0)	0,045 (58,3)	0,014 (68,9)	0,026 (0)	76
<i>Pesticides</i>						
Carbaryl	0,055	0,056 (0)	0,035 (37,5)	n.d. (100,0)	n.d.	100
Diazinon	0,047	0,031 (34,0)	n.d. (100,0)	n.d.	n.d.	100
<i>Cosmétiques</i>						
Benzphénone	0,057	0,059 (0)	0,068 (0)	0,006 (91,2)	n.d. (100,0)	100

Petrovic *et al.* (2001) ont analysé des agents de surface nonylphénoliques et leurs dérivés halogénés dans une station d'eau potable espagnole. Ils ont montré que la chloration des composés parents en présence d'ions bromure ( $C = 1 \text{ mg.L}^{-1}$ ) formait des dérivés chlorés et bromés, plus toxiques selon Maki *et al.*, (1998). Dans l'usine de production d'eau potable étudiée, la formation des dérivés bromés a été détectée après la préchloration. Après les étapes de floculation, filtration sur sable, ozonation, adsorption sur charbon actif et chloration finale, les concentrations des agents de surfaces et de leurs sous-produits étaient inférieures aux limites de détection.

Une forte élimination des perturbateurs endocriniens semble possible en usine de production d'eau potable. Quelques produits se montrent plus réfractaires et peuvent être retrouvés dans l'eau produite. Cependant, les études *in vivo* n'ont, pour l'instant, pas montré l'activité estrogénique de ce produit.

Ce type d'études permet d'identifier, dans les conditions réelles, les procédés de traitement capables d'éliminer les composés ciblés. Cependant, la taille des différents réacteurs n'est pas propice à l'étude plus fine d'un procédé en particulier ou au développement de ses capacités d'élimination. Ainsi, de nombreuses études de la capacité d'élimination des procédés de traitement d'eau potable sont menées en laboratoire.

### I.3.2.3. Essais en laboratoire

Le comportement des perturbateurs endocriniens vis-à-vis des procédés de traitement de l'eau potable a été étudié au travers quelques études. Ainsi, les étapes de la filière telles que la coagulation/floculation, la chloration, l'adsorption, l'ozonation, et les traitements membranaires ont été recréées en laboratoire.

#### I.3.2.3.1. Coagulation/Floculation

Cette étape a pour rôle l'élimination en début de filière des matières en suspension et colloïdales en les agréant à la suite de l'adjonction d'un coagulant. La voie d'élimination supposée est l'adsorption des polluants les plus hydrophobes aux particules formées, puis leur élimination lors de la sédimentation. Choi *et al.* (2006) ont étudié l'efficacité de certains procédés de traitement sur 14 perturbateurs endocriniens, dont la coagulation/floculation. C'est sur le bisphénol A et le nonylphénol, à de concentrations initiales de  $1 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$  et  $4,5 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$  respectivement, qu'ils ont testé différents types de coagulants, le polyaluminium-silicate-sulfate

(PASS), le polyaluminium-chlorure-silicate (PACS), l'hydroxychlorure de polyaluminium (PACl), le sulfate d'aluminium et le sulfate ferrique. De faibles rendements d'élimination ont été obtenus avec 4 à 7 % pour l'agent de surface et pour le plastifiant de 0 à 3 %. Dans des conditions expérimentales proches, Chen *et al.* (2007) ont obtenu de meilleurs résultats avec les hormones stéroïdes. Des taux d'élimination de 20 à 50 % ont été obtenus pour l'estradiol, l'estrone, l'éthinylestradiol et l'estriol. L'hormone de synthèse est l'espèce qui a montré le taux d'élimination le plus faible.

L'étape de coagulation/floculation est d'une efficacité limitée vis-à-vis de l'élimination des polluants organiques. De plus, l'hypothèse de l'adsorption de ces molécules du fait de leur caractère hydrophobe n'est pas confirmée. En effet, Choi *et al.* (2006) ont obtenu pour le nonylphénol et dans des conditions expérimentales proches, un rendement d'élimination plus faible que Chen *et al.* (2007) pour les hormones, plus hydrophiles. Egalement, dans la même étude, Chen *et al.* (2007) a obtenu le plus faible rendement avec la molécule la plus hydrophobe.

#### I.3.2.3.2. Chloration

La chloration a pour but premier la désinfection bactériologique de l'eau. Sous certaines conditions, elle peut éliminer une partie de la pollution organique. Néanmoins, cette réaction est susceptible de former des sous produits, ou des produits de transformation (Deborde et von Gunten, 2008), potentiellement bioactifs (Maki *et al.*, 1998). Ainsi, des études en laboratoire ont été menées afin de déterminer les capacités d'élimination de cette étape de filière de production d'eau potable et d'identifier les éventuels sous produits.

Westerhoff *et al.* (2005) ont étudié l'élimination de 62 perturbateurs endocriniens et produits pharmaceutiques et de soin, parmi lesquels apparaissaient quelques hormones stéroïdes et des pesticides. Pour deux types d'eau brute, et des quantités de Cl<sub>2</sub> en large excès, la plupart des composés étudiés ont été éliminés à des taux allant de 25 à 75 % pour une concentration initiale allant de 10 à 250 ng.L<sup>-1</sup> après un temps de contact de 24 h. Pour quelques composés, les concentrations résiduelles étaient inférieures aux limites de détection. C'était le cas des hormones stéroïdes. Deborde *et al.* (2004) ont étudié la cinétique d'oxydation d'estrogènes et d'un agent de surface. Ils ont mis en évidence une réaction du second ordre pour ce type de composés et des temps de demi-vie de 6 à 8 min pour les hormones et de 65,1 min pour le nonylphénol dans des conditions identiques. Les résultats vis-à-vis des hormones sont cohérents avec ceux de Westerhoff *et al.* (2005).

Gallard *et al.*, (2004) ont suivi la cinétique de dégradation et la formation de sous-produits chlorés du bisphénol A. Ils ont déterminé un temps de demi-vie allant de quelques minutes à 1,5 h dans des conditions classiques de l'eau potable ( $\text{pH} \geq 6,5$  et  $[\text{Chlore résiduel}] \geq 0,2 \text{ mg.L}^{-1}$ ). Ils ont ensuite effectué la chloration d'une solution de BPA à  $\text{pH} = 8$ . Leurs résultats ont montré la dégradation du BPA en 20 min et la formation de 4 sous-produits après 10 min de chloration : le monochloro-, dichloro-, trichloro- et le tétrachlorobisphénol A. Au bout d'une heure de chloration, seul le sous produit tétrasubstitué restait en solution affichant une formation et une dégradation plus lentes. Ces résultats en accord avec ceux de Hu *et al.* (2002), et Yamamoto et Yasuhara (2002) montrent qu'un temps de la chloration long, peut permettre une élimination des sous produits formés par le même procédé.

### I.3.2.3.3. Adsorption sur charbon actif

L'étape d'adsorption sur lit de charbon actif est conçue pour éliminer la pollution organique lors de la potabilisation et des études sur site ont montré son efficacité vis-à-vis de composés de familles diverses (Kampioti *et al.*, 2005; Stackelberg *et al.*, 2007). Selon Bruchet et Janex-Habibi (2004), ce procédé de traitement semble être prometteur pour l'élimination de nombreux perturbateurs endocriniens.

Tableau I.16. Rendement d'élimination de perturbateurs endocriniens en eau naturelle par adsorption sur charbon actif en poudre (temps de contact = 4 h) (Yoon *et al.*, 2003)

Charbon	Dose de charbon ( $\text{mg.L}^{-1}$ )	Rendement d'élimination (%)		
		Bisphénol A	Estradiol	Ethinylestradiol
Norit 20B	5	73,1 (1,3)	93,6 (0,1)	78,1 (0,3)
AC800	5	65,5 (1,1)	87,8 (0,4)	71,1 (1,1)
Pica	5	57,5 (1,6)	96,4 (0,1)	88,9 (0,2)
WPM	5	53,0 (1,6)	96,3 (0,1)	72,7 (1,1)
HDB-1091	5	38,6 (2,2)	86,6 (0,4)	50,4 (1,0)
HDB-1033	5	33,3 (3,0)	89,1 (0,5)	54,3 (0,7)
Norit 20B	15	95,2	> 99,0	95,5
AC800	15	94,4	> 99,0	96,2
Pica	15	86,6	> 99,0	98,2
WPM	15	85,5	> 99,0	95,2
HDB-1091	15	78,5	94,1	80,6
HDB-1033	15	81,3	94,4	81,5

Valeurs entre parenthèses sont les écart-types calculés pour  $n = 2$

Yoon *et al.*, (2003) ont testé 6 charbons actifs en poudre (PAC) pour l'adsorption du bisphénol A, de l'estradiol et l'éthinylestradiol. Pour une concentration initiale de 23, 27 et 29  $\mu\text{g.L}^{-1}$  (100 nM), respectivement, les auteurs ont observé sur une eau modèle exempte de matière organique un rendement d'élimination supérieur à 90 %, après 4 h de temps de contact. Tous les charbons utilisés dans cette étude étaient de base houille, à l'exception d'un charbon de base bois. De plus, les auteurs ont mis en évidence que la présence de matière organique qui entre en compétition avec les composés cibles, et la quantité de charbon utilisée peuvent diminuer les rendements d'élimination (Tableau I.16). L'eau naturelle testée présentait un taux de carbone organique dissous de 7,7  $\text{mg.L}^{-1}$ . Ils ont également montré que la capacité d'adsorption peut être corrélée au Log  $K_{ow}$  des molécules étudiées. En effet, les composés les plus hydrophobes se sont avérés être les plus adsorbables.

Westerhoff *et al.* (2005) ont étudié l'adsorption de 62 micropolluants organiques sur charbon actif en poudre, à des concentrations initiales comprises entre 10 et 250  $\text{ng.L}^{-1}$ . Pour un temps de contact de 4 h et une concentration de charbon de 5  $\text{mg.L}^{-1}$ , les auteurs ont obtenu des rendements d'élimination allant de 10 à plus de 95 % pour les composés les plus polaires et de 50 à plus de 98 % pour les composés les plus apolaires. Ces manipulations leur ont notamment permis de confirmer que la valeur du Log  $K_{ow}$  est un bon indicateur de l'élimination des micropolluants étudiés par adsorption. Des manipulations avec des quantités de charbon supérieures ont montré une influence positive sur les rendements d'élimination.

L'adsorption sur charbon actif semble être un procédé efficace quant à l'élimination des perturbateurs endocriniens, molécules organiques généralement apolaires. Les procédés de désinfections sont susceptibles de générer des sous-produits généralement plus polaires que leurs précurseurs (Zwiener et Richardson, 2005). Et les performances d'élimination du traitement par adsorption, parfois placé à la suite d'un traitement oxydatif dans la filière, sont pour l'instant peu connues pour ce type de composés (Jiang et Adams, 2006). Cependant, l'analyse chimique effectuée par Petrovic *et al.* (2001) et l'étude du potentiel estrogénique de l'eau potable en fin de filière réalisées par Cargouët *et al.* (2007) et par Jugan *et al.* (2009) semblent indiquer que ces espèces générées dans l'usine de production sont éliminées avant la sortie. D'autres études ont montré que dans des conditions réelles, les capacités d'adsorption peuvent diminuer, en raison de la compétition à l'adsorption générée par la matière organique. L'effet de la matière organique sur les capacités d'adsorption est un sujet qui a fait l'objet de nombreuses études



(Knappe *et al.*, 1997; Newcombe *et al.*, 2002; Matsui *et al.*, 2003). Dans le cadre de la nouvelle problématique que représentent les perturbateurs endocriniens, cet aspect doit être pris en compte pour l'évaluation complète du procédé de traitement.

#### I.3.2.3.4. Ozonation

Comme la chloration, l'ozonation est employée en tant que procédé de désinfection au sein de l'usine de production d'eau potable. En raison des sous produits éventuels qu'il peut engendrer, ce procédé est étudié afin de déterminer la réactivité des perturbateurs endocriniens soumis à ce type de traitement.

Deborde *et al.* (2005) ont déterminé les vitesses d'oxydation de plusieurs perturbateurs endocriniens par l'ozone. Les résultats ont montré une grande réactivité de l'ozone lorsque qu'il est en concentration 10 fois supérieure à celle du polluant. Les auteurs ont déduit de ce pouvoir de dégradation important, une élimination des composés étudiés supérieure à 95 %, pour une exposition à environ 2  $\mu\text{g}\cdot\text{min}\cdot\text{L}^{-1}$ . Là encore, la production et de l'éventuelle toxicité des sous-produits doit être étudiée. Ainsi, cette même équipe a cherché à identifier les sous-produits issus de l'ozonation du bisphénol A (Deborde *et al.*, 2008). Les auteurs ont effectué l'analyse de leurs échantillons par HPLC-UV-DAD-MS (simple et en tandem). Les deux détecteurs en série ont permis l'obtention des spectres UV et de la masse de chaque produit séparé par le système chromatographique. Ils ont ainsi pu confirmer la présence de cinq produits majeurs de dégradation, déjà identifiés dans la littérature, et détecter la formation de trois produits mineurs. Compte tenu de la masse molaire importante de ces produits, les auteurs ont émis l'hypothèse de réactions secondaires entre les produits de dégradation. Enfin, l'étude de l'effet de la concentration de l'oxydant sur la formation des produits majeurs de dégradation a permis de déduire leur stabilité limitée.

Huber *et al.*, 2004 ont présenté des conclusions similaires pour la dégradation par l'ozone de l'éthinylestradiol. Les auteurs ont montré la dégradation rapide de l'hormone pour des doses d'ozone semblables à celle appliquées lors de la désinfection en usine de traitement. Dans ces conditions, une modification du cycle phénolique peut entraîner une réduction du potentiel estrogénique d'un facteur supérieur à 200.

#### I.3.2.3.5. Membranes

Les perturbateurs endocriniens sont généralement des molécules de faible masse moléculaire. Selon Bruchet et Janex-Habibi (2004), les membranes de basse pression (micro et

ultrafiltration) n'ont que peu d'effets sur ces composés. En revanche, les membranes de nanofiltration et osmose inverse permettent d'obtenir des taux d'élimination plus importants. Les taux d'élimination varient en fonction des configurations membranaires adoptées (taux de conversion, nombre d'étages de membranes) et des propriétés physico-chimiques de la membrane. Yoon *et al.* (2007) ont étudié l'élimination de 27 perturbateurs endocriniens et produits pharmaceutiques et de soin par ultrafiltration et nanofiltration. Pour des concentrations allant de 2 à moins de 150 ng.L<sup>-1</sup>, les membranes de nanofiltration ont permis d'atteindre un rendement d'élimination de 30 à 90 %, excepté pour le naproxen (< 10%), alors que les membranes d'ultrafiltration n'ont montré que 30 % de rendement d'élimination, sauf pour quelques composés apolaire dont le Log K<sub>ow</sub> était supérieur à 3. Cette étude a mis en évidence que le mécanisme de rétention pour les membranes de nanofiltration testées (films composites en polyamide aromatique ou polyéthersulfone sulfonée avec une couche ultrafine en polyimide) mettait en jeu une adsorption hydrophobe et de l'exclusion stérique. Dans le cas des membranes d'ultrafiltration, seule l'adsorption hydrophobe intervenait dans la rétention. Les membranes à haute pression semblent permettre l'élimination des perturbateurs endocriniens, avec des rendements variables. Certains auteurs proposent leur utilisation en complément de l'adsorption afin d'affiner le traitement (Bodzek et Dudziak, 2006). Cependant, le coût et la maintenance de cette technique sont encore importants.

#### I.3.2.3.6. Conclusion sur les types de traitements

Les différents procédés rencontrés dans les usines de traitement ont un effet, plus ou moins marqué, sur la concentration des perturbateurs endocriniens dans l'eau potable. Les estimations de Yoon *et al.* (2002) vis-à-vis du potentiel d'élimination des différents traitements sont en accord avec les résultats issus de la littérature. Les traitements tels que l'adsorption sur charbon actif, la chloration et l'ozonation, et la nanofiltration et osmose inverse sont capables d'éliminer avec un rendement élevé toutes les classes de perturbateurs endocriniens. Les traitements oxydatifs sont capables d'éliminer une large partie du potentiel estrogénique de l'eau potable, avec parfois des rendements d'élimination supérieures à l'adsorption sur lit de charbon (Petrovic *et al.*, 2001). Cependant, comme l'ont montré Petrovic *et al.* (2001), ces traitements sont susceptibles de générer des sous-produits de dégradation dont la toxicité n'est pas toujours connue. Et la filtration membranaire, qui nécessite une maintenance supérieure aux lits de charbon actifs, est moins développée pour l'élimination des perturbateurs endocriniens.

#### I.4. CONCLUSION

Les perturbateurs endocriniens sont des molécules capables d'interférer dans le fonctionnement du système hormonal. Des études ont montré les effets de ce type de composés sur les animaux, et, bien que les effets observés soient difficilement transposables à l'Homme, des questionnements vis-à-vis de la Santé Publique sont apparus et des stratégies d'actions à l'échelle mondiale, nationale et locale sont nées. Ces micropolluants sont retrouvés principalement dans les rejets industriels, domestiques et agricoles à des concentrations allant de quelques  $\text{ng.L}^{-1}$  pour les hormones stéroïdes à plusieurs  $\mu\text{g.L}^{-1}$ , pour les plastifiants et surfactants.

Dans les stations d'épuration, le traitement biologique et l'adsorption sur particules en suspension sont en grande partie à l'origine de la diminution de la concentration des perturbateurs endocriniens. Cet abattement n'est pas total puisque des résidus sont retrouvés dans les effluents et dans le milieu récepteur. Les eaux de surface et souterraines contiennent également ce type de molécules. Leur contamination est non seulement due aux effluents des stations d'épuration mais aussi aux sources diffuses de pollutions telles que les lessivages de sols agricoles et les ruissellements urbains. La qualité de l'eau potable produite à partir de ces ressources est une question primordiale et une évaluation de l'efficacité des procédés de traitement est nécessaire. C'est notamment le cas en Bretagne qui est une région où l'activité agricole est forte et 70 % des captages pour la production d'eau potable provient d'eaux de surfaces. Quelques études ont montré la présence des perturbateurs endocriniens en sortie de filière mais les tests *in vivo*, effectués sur des animaux, ont révélé une absence d'activité estrogénique. Cependant, le risque n'est pas nul. Il faut garder à l'esprit que le mélange de substances à des concentrations individuelles inférieures à celles pouvant entraîner une perturbation hormonale n'est pas sans risque et que ce type de substances, pour la plupart hydrophobes, peuvent se concentrer voire s'accumuler dans l'organisme.

C'est une des raisons pour lesquelles l'analyse de ces molécules à l'état de traces est d'une grande importance. De nombreuses techniques sont continuellement mises en place afin de détecter la présence de ces micropolluants dans l'environnement, et notamment dans les eaux de boisson.

## II. ANALYSES DES COMPOSES PERTURBATEURS ENDOCRINIENS

La présence des perturbateurs endocriniens dans l'environnement est avérée. Bien que pour l'instant leur toxicité vis-à-vis de la santé humaine ne soit que supposée, de nombreuses équipes veulent anticiper une éventuelle réglementation à l'égard de ce type de composés et développent des méthodes d'analyse pour des matrices diverses.

### II.1. METHODES D'ETUDE DU POUVOIR PERTURBATEUR ENDOCRINIEN

Bien qu'il y ait un consensus international sur la stratégie à mener pour l'étude des perturbateurs endocriniens, aucune méthode n'est réellement standardisée. Elles reposent sur des tests *in vitro* et *in vivo*.

#### II.1.1. TESTS *IN VITRO*

Les essais *in vitro* sont rapides, peu chers et n'utilisent pas d'animaux vivants. De ce fait, ils sont très utiles lors d'études de toxicité sur un grand nombre de produits chimiques. Ils permettent une identification des perturbateurs endocriniens potentiels et une étude de leur mécanisme d'action. Cependant, ils comportent l'inconvénient de ne pas prendre en compte toutes les interactions possibles entre les différents éléments du système endocrinien et les phénomènes de bioaccumulation.

Trois principaux types d'essais *in vitro* sont utilisés, ils reposent sur :

- l'affinité de la liaison au récepteur (Soto *et al.*, 1995; Zacharewski, 1997; Baker, 2001)
- la prolifération cellulaire (Jones *et al.* 1997; 1998)
- l'expression de gènes (Zacharewski, 1997; Baker, 2001).

#### II.1.2. TESTS *IN VIVO*

Les tests *in vivo* sont effectués sur des animaux vivants. Bien que l'extrapolation d'une espèce à une autre et à l'Homme soit difficile, ils permettent de se rendre compte de la réelle toxicité d'un composé chimique. Ces tests permettent de tenir compte de certaines interactions

qui ont lieu dans l'organisme. Ils comportent néanmoins certains désavantages par rapport aux tests *in vitro* tels que leur prix élevé et leur durée importante. De ce fait, il est plus difficile d'estimer la toxicité d'un grand nombre de molécules en peu de temps.

Deux types de tests sont réalisés *in vivo* :

- *les tests à court terme* : réalisés sur une seule génération, étudient essentiellement les troubles endocriniens directement générés par la molécule testée sur le sujet. Ils permettent de déterminer si une substance est un perturbateur endocrinien ;
- *les tests à long terme* : réalisés sur plusieurs générations, permettent d'effectuer une évaluation complète de tous les effets d'un composé chimique sur les sujets, sa reproduction et sa progéniture.

Afin de déterminer le potentiel (anti-)estrogénique ou (anti-)androgénique d'une substance, plusieurs paramètres peuvent être mesurés : le poids et l'histologie des organes reproducteurs, les taux sériques des hormones, l'activation des gènes *in vivo*, la synthèse de protéines, le comportement, la croissance, le développement, le maintien de la grossesse, l'anatomie et la morphologie (Gray *et al.*, 1997; Ankley *et al.*, 1998).

### II.1.3. METHODES D'ANALYSE «BIOLOGIQUE» DES COMPOSES PERTURBATEURS ENDOCRINIENS

#### II.1.3.1. Méthode de dosage ELISA

Le test ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay) est un test immunologique destiné à détecter et/ou doser une protéine dans un liquide biologique. Dans la technique de dosage dite « en sandwich », les puits d'une microplaque sont tapissés avec un anticorps de capture capable de lier spécifiquement l'antigène recherché. L'anticorps de capture assure la spécificité du test. La solution à tester est ensuite déposée dans les puits de la microplaque et si l'antigène recherché est présent il va se lier spécifiquement à l'anticorps de capture. Un deuxième anticorps, l'anticorps traceur, capable de se lier à l'antigène capturé est alors ajouté dans le puits et les anticorps traceurs non fixés sont éliminés par rinçage. L'anticorps traceur est couplé à une enzyme catalysant la formation d'un produit coloré. La réaction peut ainsi être quantifiée par colorimétrie à partir d'une courbe d'étalonnage réalisée avec des concentrations connues d'antigène puisque le nombre de molécules d'anticorps traceur fixées dépend du nombre de molécules d'antigènes immobilisées par l'anticorps de capture (Goldsby *et al.*, 2002).

La sensibilité de cette technique d'analyse rapide et d'un coût peu élevé a été comparée à celles de l'analyse par chromatographie liquide haute performance couplée à la spectrométrie de masse en tandem triple quadripôle (HPLC-MS/MS (QqQ)) et de la chromatographie liquide à ultra haute pression couplée à la spectrométrie de masse en tandem quadripôle-temps de vol (UPLC-Q-TOF-MS). Il a été montré, pour l'estradiol et dans différents types d'eaux, que le test ELISA, l'analyse par HPLC-MS/MS (QqQ) et par UPLC-Q-TOF-MS présentent des sensibilités et limites de détection comparables. En analyse directe sur eaux de surface, qui constituent une matrice beaucoup moins complexe que les eaux de rejets, la limite de détection du test ELISA est de 2,5 ng.L<sup>-1</sup> (Farré *et al.*, 2007).

Cette technique reste néanmoins semi-quantitative car elle surestime la concentration du composé cible qui est présent dans l'échantillon avec d'autres molécules de structure similaire. De plus, elle nécessite une phase de traitement d'échantillon avant l'analyse des matrices complexes telles que les eaux de rejets.

Le test ELISA constitue donc une très bonne technique d'analyse préliminaire (dite de screening) d'une grande quantité d'échantillons avant la confirmation des concentrations exactes pour les échantillons retenus par des méthodes plus justes (analyse chimique).

### II.1.3.2. Méthode de dosage YES

Le test YES (Yeast Estrogen Screen) est un test biologique qui permet d'identifier les composés qui interagissent avec le récepteur aux estrogènes humains (hER $\alpha$ ). Les cellules de levure utilisées pour ce test ne contiennent pas ce type de récepteurs. Par conséquent, la séquence ADN du hER $\alpha$  est intégrée de manière stable dans le chromosome principal de la levure. Les cellules contiennent également des plasmides d'expression portant le gène rapporteur *lac-Z* (qui code l'enzyme  $\beta$ -galactosidase), qui sert à mesurer l'activité des récepteurs. La liaison entre les composés à tester et les récepteurs cause l'expression du gène *lac-Z* et donc de l'enzyme qui est sécrétée dans le milieu. Cette enzyme métabolise ensuite le substrat chromogénique *ortho*-nitrophényl  $\beta$ -D-galactopyranoside (ONPG), qui est incolore, en un composé jaune, l'*ortho*-nitrophénol (ONP). Enfin, cette substance peut être quantifiée par absorbance à 420 nm. Pour le 17 $\beta$ -estradiol, la limite de détection est de 2,7 ng.L<sup>-1</sup> (Isidori *et al.*, 2006).

## II.2. METHODES D'ANALYSE CHIMIQUE DES PERTURBATEURS

### ENDOCRINIENS

Les méthodes d'analyse biologique déterminent la concentration du composé cible à partir de la réponse des récepteurs (à estrogènes). Elles peuvent donc surestimer la concentration réelle d'un polluant si celui-ci est en présence d'autres composés estrogéniques. Les méthodes d'analyse chimique permettent de déterminer la concentration d'un composé avec plus de justesse. En effet, les techniques de détection employées dans ces méthodes sont plus spécifiques et permettent une analyse quantitative fiable, dans les limites de concentrations imposées par la méthode.

Les études biologiques (*in vitro* et *in vivo*) mettent continuellement en évidence la toxicité de composés de plus en plus nombreux et à des concentrations de plus en plus faibles. De ce fait, la mise en place de nouvelles méthodes d'analyse chimique qui permettront de quantifier un grand nombre de molécules à de très faibles concentrations est un sujet de recherche d'un intérêt grandissant.

De nombreuses méthodes d'analyse ont été publiées depuis que la présence des perturbateurs endocriniens dans l'environnement aquatique a été montrée. La diversité du matériel analytique qui convient à ce type de molécules et de matrices ainsi que le nombre de réactifs utilisables engendrent un grand nombre de méthodes d'analyse. Une même molécule peut être quantifiée par différents moyens avec des exactitudes très variables. Il est néanmoins possible d'observer une tendance générale dans l'analyse de ces polluants présents dans le milieu aquatique. Les échantillons subissent généralement une phase de traitement avant analyse par chromatographie en phase liquide (HPLC) ou gazeuse (GC). La détection s'effectue ensuite au moyen de différentes techniques. Ces aspects seront détaillés dans les paragraphes suivants

#### II.2.1. TRAITEMENT DE L'ECHANTILLON

Pour permettre une séparation chromatographique et une détection - et donc un résultat d'analyse - optimales, l'échantillon inconnu d'une eau polluée doit être injecté dans les meilleures conditions. Idéalement, celui-ci ne devrait contenir que les molécules cibles, en quantité suffisante pour être quantifiée de manière exacte. Pour les échantillons solides (sols, aliments, échantillons biologiques...), une extraction permettant le passage des analytes en phase liquide précédera l'analyse. Et concernant les échantillons liquides, un traitement de l'échantillon est très souvent nécessaire. Par exemple, depuis les rejets d'eaux usées à l'eau potable,

l'échantillon ne peut être injecté directement. Nous avons vu dans le chapitre I.2.2 que dans les rejets, la concentration des polluants peut être élevée, jusque plusieurs dizaines de  $\mu\text{g.L}^{-1}$ . Mais ce type de matrice est complexe et requiert nécessairement un traitement afin de cibler les composés d'intérêt. Il en est de même avec les eaux naturelles (de surface ou souterraines) qui contiennent une matière organique naturelle (MON) de 1 000 à 1 000 000 fois plus concentrée que les analytes. Une séparation de ces deux types de molécules s'impose. Pour l'eau potable dont une partie des interférents a été éliminée, il s'agira de concentrer les analytes de manière à pouvoir les détecter et les quantifier. Pour ces trois types d'échantillon, l'extraction des analytes sera donc le traitement principal avant l'injection, avec une concentration poussée pour les eaux traitées.

La technique d'extraction employée est choisie en fonction du type d'échantillon (eau, boue, fluides corporels, etc.) et du type de solutés à extraire. De plus, quelques différences existent entre l'extraction précédant une analyse par chromatographie liquide et gazeuse. Le solvant d'injection qui contient les molécules d'intérêt à doser sera, par exemple, choisi pour sa volatilité pour l'analyse par chromatographie gazeuse et sa polarité par rapport à la phase mobile pour l'analyse par HPLC.

#### II.2.1.1. Echantillons solides

Au même titre que les méthodes d'analyse chromatographique, il existe plusieurs techniques d'extraction des micropolluants tels que les perturbateurs endocriniens. Pour les matrices solides, plusieurs techniques d'extraction en phase liquide existent. Pour ces différentes méthodes, le solvant utilisé pour extraire les composés d'intérêt et l'échantillon sont soumis à différents traitements afin de favoriser le passage des micropolluants de la phase solide vers la phase liquide. Ainsi, l'extraction des molécules d'intérêt peut être effectuée sous simple agitation, sous ultrasons, à l'aide de micro-ondes (Microwave Assisted Extraction, MAE) ou par l'action du solvant sous pression (Pressurized Liquid (ou Solvent) Extraction, PLE ou PSE, ou Accelerated Solvent Extraction, ASE), porté à ébullition (appareil de Soxhlet) ou à l'état supercritique (Supercritical Fluid Extraction, SFE) (Cortazar *et al.*, 2005; Carabias-Martinez *et al.*, 2006).

La technique MAE a été employée en 2005 pour l'extraction du nonylphénol d'échantillons de sédiments, de mono- et di-éthoxylates de nonylphénol et de phtalates avant l'analyse par HPLC-UV. Des rendements supérieurs à 90 % pour quatre des six phtalates et supérieurs à 65 % pour les trois agents de surface étudiés ont été obtenus. La technique d'extraction a été comparée à la PLE, dans le but d'être validée, et jugée adaptée à l'extraction



des composés d'intérêt (Cortazar *et al.*, 2005). Un rendement d'extraction par PLE de 81 à 104 % a été obtenu pour le bisphénol A, le nonylphénol et d'autres composés phénoliques contenus dans des céréales (Carabias-Martinez *et al.*, 2006). Le dispositif de Soxhlet est également utilisé pour l'extraction de certains perturbateurs endocriniens. Il a permis l'extraction du nonylphénol et de certains de ses polyéthoxylates contenus dans des échantillons de boue avec des rendements de 66,2 et 87,7 %, respectivement (Fountoulakis *et al.*, 2005). Enfin, le dioxyde de carbone est utilisé comme solvant d'extraction lorsqu'il est amené à l'état supercritique. Pour de nombreux éthoxylates de nonylphénol présents dans des échantillons de sédiments, cette technique a permis d'obtenir des rendements d'extraction de 85 à 103 % (Lee *et al.*, 1997). Pour toutes ces méthodes d'extraction, l'écart-type relatif (RSD) était inférieur à 20 %, dénotant une répétabilité acceptable.

Ces méthodes de traitement d'échantillon permettent donc de réaliser l'extraction de perturbateurs endocriniens avec une certaine efficacité. Néanmoins, les extraits sont souvent obtenus dans un grand volume de solvant et peuvent contenir des composés interférents. L'évaporation de l'extrait permet d'en réduire le volume et de concentrer l'échantillon. Cependant, les composés indésirables qui créeront du bruit de fond supplémentaire ou des pics parasites lors de l'analyse chromatographique sont également concentrés par cette opération. Ainsi, ces techniques d'extraction solide-liquide peuvent être suivies d'une phase d'extraction sur phase solide (SPE) pour concentrer et surtout purifier l'extrait obtenu (Cortazar *et al.*, 2005; Fountoulakis *et al.*, 2005; Carabias-Martinez *et al.*, 2006).

#### II.2.1.2. Echantillons liquides

Pour les matrices liquides telles que les influents ou effluent de stations d'épuration ou d'usine de production d'eau potable, l'extraction des composés d'intérêt peut se faire en phase liquide ou solide. L'extraction liquide-liquide (LLE) repose sur les mêmes principes que l'extraction solide-liquide. Dans ce cas, l'agitation seule suffit à extraire efficacement les molécules d'intérêt. Néanmoins, comme pour l'extraction solide-liquide, les analytes extraits peuvent être contenus dans un grand volume et peuvent être en présence d'impuretés en quantité importante. Les techniques d'extraction sur phase solide sont donc préférables pour ce type d'échantillon.

L'extraction sur phase solide peut se faire via trois principales techniques : l'extraction sur barreau adsorbant (Stir Bar Sorptive Extraction, SBSE), la micro extraction sur phase solide (Solid Phase Micro Extraction, SPME) et l'extraction sur phase solide (Solid Phase Extraction).

Il s'agit ici de retenir les composés recherchés sur une phase solide en la mettant en contact avec l'échantillon. Pour la technique SPME, une micro fibre est plongée dans l'échantillon qui est agité pour faciliter l'adsorption. Pour la technique SBSE, le barreau aimanté recouvert de phase solide sert à agiter la solution et extraire les molécules. Les composés extraits par ces deux techniques sont ensuite désorbés dans un solvant par l'aide d'ultrasons ou grâce à la phase mobile pour le système d'extraction SPME en ligne avec l'analyse chromatographique.

La technique d'extraction SBSE, suivie d'une étape de désorption en phase liquide, a été employée pour la quantification de neuf hormones sexuelles stéroïdiennes dans l'eau et l'urine. Les rendements d'extraction obtenus étaient de 11,1 à 100,2 % (Almeida et Nogueira, 2006). Fan *et al.* (2005) ont mis en place une méthode d'analyse en ligne -dite « in-tube SPME-HPLC »- du bisphénol A dans l'eau du lac Donghu. Ils ont présenté une technique prometteuse pour l'analyse de routine qui permet une extraction rapide (60 s) et répétable (RSD = 2,5 %). Ces deux techniques d'extraction sur phase solide présentent le même inconvénient : l'établissement d'un équilibre entre les phases solide et liquide empêche la récupération totale des analytes. L'extraction de l'échantillon est assimilable à un équilibre d'adsorption en réacteur discontinu, la concentration résiduelle sera plus ou moins élevée selon l'affinité de l'analyte pour le matériau adsorbant.

La technique d'extraction sur cartouche SPE est la plus répandue dans l'analyse l'environnementale (Hennion, 1999; Gros *et al.*, 2006). Trois types de cartouches sont souvent utilisés dans les méthodes d'extraction : silice greffée C8 ou C18, et polymériques HLB et MCX. Le tableau I.17 donne pour ces trois adsorbants le type de perturbateurs endocriniens ciblés et le type d'interaction gouvernant leur rétention.

Tableau I.17. Types de molécules retenues et d'interaction de trois adsorbants de cartouches SPE

Adsorbant	Molécules retenues	Types d'interaction
Silice greffée C8 et C18	Apolaires	Interactions hydrophobes
MCX	Apolaires	Interactions hydrophobes
(Mixed-mode Cation exchanger)	Basiques	Echange de cations
HLB	Apolaires	Interactions hydrophobes
(Hydrophilic-Lipophilic Balanced)	Légèrement polaires	Interactions dipôle-dipôle et liaisons H

Cette technique offre, comme les deux précédentes, de bons rendements d'extraction et permet également d'obtenir une limite de détection de l'ordre du ng.L<sup>-1</sup> au dixième de µg.L<sup>-1</sup> selon le composé analysé. Boti *et al.* (2007) ont mis en place une méthode SPE off line HPLC-UV-DAD pour l'analyse de deux pesticides et de leurs métabolites. Les rendements d'extraction

obtenus étaient de 71,6 à 90,2 % et les limites de détection atteignaient 1,3 à 11,2 ng.L<sup>-1</sup>. En 2006, Trenholm *et al* ont obtenu des rendements allant de 50 à 112 % pour l'extraction de 58 molécules au moyen de cette technique. Et pour l'analyse de 27 composés comprenant des produits pharmaceutiques, des stéroïdes, des pesticides et des produits de soin par SPE-LC-MS/MS, Vandeford *et al.* (2003) ont obtenu des rendements d'extraction supérieurs à 80 %.

Une extraction sur phase solide s'effectue en quatre étapes principales (Figure I.3).

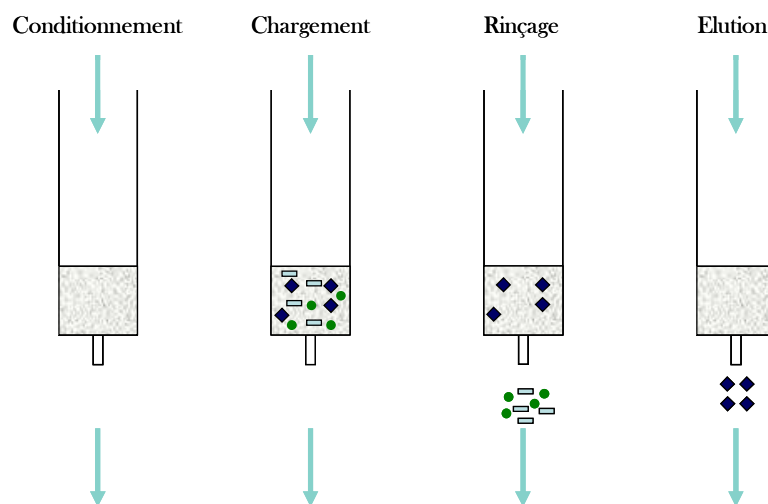


Figure I.2. Les phases principales de l'extraction sur phase solide (SPE)

Le conditionnement s'effectue en deux étapes. Tout d'abord le rinçage à l'aide du solvant d'élution sert à éliminer les composés éventuellement présents dans la cartouche avant l'extraction. Ensuite, le rinçage à l'eau sert à préparer la phase au chargement de l'échantillon. A la suite du chargement, la phase adsorbante est rincée avec un solvant approprié afin d'éliminer sélectivement les impuretés. Enfin, les analytes sont élués avec un faible volume de solvant organique. L'éluât est ensuite évaporé (à sec ou non) puis repris dans le solvant d'injection. Pour garder la même analogie, cette technique s'apparente à l'adsorption sur lit de charbon actif où la totalité des analytes est retenue sur le matériau à condition qu'il y ait suffisamment de sites disponibles.

D'autres techniques d'extraction ont été développées et sont utilisées dans les méthodes d'analyses des perturbateurs endocriniens. Il s'agit de la Hollow Fiber Based Micro Extraction (HFME) et de la Single Drop Micro Extraction (SDME) (Sarafraz-Yazdi et Es'haghi, 2006). Néanmoins, ces techniques sont peu utilisées pour l'analyse des perturbateurs endocriniens et ne seront donc pas plus abordées dans ce chapitre.

## II.2.2. SEPARATION CHROMATOGRAPHIQUE

## II.2.2.1. Analyse par chromatographie en phases gazeuse et liquide

Le choix entre chromatographie en phase liquide et chromatographie en phase gazeuse pour l'analyse des perturbateurs endocriniens dépend des caractéristiques physico-chimiques des analytes cibles (Boyd *et al.*, 2003). Les perturbateurs endocriniens sont des composés qui couvrent une large plage de polarité (Westerhoff *et al.*, 2005). Certains contaminants environnementaux possèdent des groupements polaires, ils sont ainsi peu volatiles et sont thermolabiles. L'analyse par chromatographie liquide est donc la technique adaptée à ce type de molécules. Certains polluants sont plus apolaires et sont plus facilement analysables par chromatographie gazeuse.

Tableau I.18. Méthodes d'analyse des perturbateurs endocriniens par chromatographies liquide et gazeuse

Extraction	Type d'analyse	Nombre d'analytes	Type d'analytes	Références
SPE off-line	GC	14	Hormones, produits chimiques et pharmaceutiques	Yu <i>et al.</i> , 2007
SPE on-line	GC	18	Produits chimiques et phytosanitaires	Brossa <i>et al.</i> , 2003
SPE off-line	GC	31	Produits phytosanitaires	Xue <i>et al.</i> , 2005
SPE off line	GC	26	Hormones et Produits chimiques	Regan <i>et al.</i> , 2002
LLE on-line	GC	19	Hormones, Produits chimiques et pharmaceutiques	Soliman <i>et al.</i> , 2004
SPE off-line puis LLE	GC	31	HAP, Produits phytosanitaires	Trenholm <i>et al.</i> , 2006
SPE off-line	HPLC	29	Hormones, Produits pharmaceutiques	Trenholm <i>et al.</i> , 2006
SPE off-line	HPLC	29	Produits pharmaceutiques	Gros <i>et al.</i> , 2006
SPE on-line	HPLC	20	Produits phytosanitaires	Kampioti <i>et al.</i> , 2005
SPE off-line	HPLC	27	Hormones, Produits pharmaceutiques et phytosanitaires	Vanderford <i>et al.</i> , 2003
SPE on-line	HPLC	35	Hormones, Produits chimiques et phytosanitaires	Benijts <i>et al.</i> , 2004
SPE off-line	HPLC	29	Hormones, produits chimiques et HAP	Famiglini <i>et al.</i> , 2005
SPE off-line	HPLC	14	Hormones, produits chimiques et phytosanitaires	Rodriguez-Mozaz <i>et al.</i> , 2004a

Le tableau I.18 donne quelques unes des méthodes d'analyse de perturbateurs endocriniens par chromatographie en phases liquide et gazeuse. Pour l'analyse de perturbateurs endocriniens par GC, les analytes doivent être volatiles à la température de travail. Les molécules étudiées non volatiles doivent donc subir une étape de dérivation chimique avant analyse qui va substituer leurs groupements polaires, notamment les motifs phénoliques. La dérivation est une étape supplémentaire qui va allonger et alourdir la préparation de l'échantillon. De plus, le rendement de cette réaction chimique n'est pas systématiquement de 100 % et peut donc entraîner des pertes d'analyte. Afin de s'affranchir d'un protocole encore plus long et complexe, seule la chromatographie en phase liquide a été considérée dans notre étude et sera abordée dans la suite de cette partie.

### II.2.2.2. Conditions de la séparation en chromatographie liquide

Le choix des conditions chromatographiques dans l'analyse en phase liquide est vaste. La composition de la phase mobile est souvent le paramètre à optimiser puisque la colonne utilisée est généralement apolaire du type C18. Le tableau I.19 montre les types de colonne et compositions de la phase mobile employés pour l'analyse en chromatographie à polarité de phases inversée de certains perturbateurs endocriniens tels que le bisphénol A ou le nonylphénol.

Tableau I.19. Types de colonnes et phase mobile utilisés pour l'analyse des perturbateurs endocriniens

Colonne	Phase mobile	Références
C18	ACN/eau	Rodriguez-Mozaz <i>et al.</i> , 2004a
C18	MeOH/eau acidifiée	Yoon <i>et al.</i> , 2003
ODS	ACN/eau	Mitani <i>et al.</i> , 2003
C18	ACN/eau acidifiée	Gibson <i>et al.</i> , 2005
C12	MeOH/eau acidifiée	Vanderford <i>et al.</i> , 2003
C18e	ACN/eau	Farré <i>et al.</i> , 2006
C18	MeOH/eau/NH <sub>4</sub> Ac	Beck <i>et al.</i> , 2005
RP-18	MeOH/eau	Xia et Jeong, 2004
C5	Eau/ACN/MeOH	Sorensen, 2006
C18	EtOH/eau	De Orsi <i>et al.</i> , 2006

ACN : Acétonitrile, MeOH : Méthanol, NH<sub>4</sub>Ac : Acétate d'ammonium, EtOH : Ethanol

### II.2.2.3. Chromatographie liquide à ultra haute pression (UHPLC)

Dans le but de mettre en place des méthodes de dosage rapides et aux limites de détection les plus basses possible, la chromatographie liquide ultra haute pression (Ultra High Pressure Liquid Chromatography, UHPLC), c'est-à-dire allant jusque des pressions de 680 bar, représente un outil très prometteur pour l'analyse et la quantification des ultra traces de perturbateurs endocriniens dans l'environnement (Petrovic *et al.*, 2006; Richardson, 2007).

Cette nouvelle technologie est née de la diminution de la taille des particules dans les colonnes chromatographiques, de 100 à 200  $\mu\text{m}$  en 1950 jusque à moins de 2  $\mu\text{m}$  actuellement (Nguyen *et al.*, 2006). Lorsque la taille des particules diminue, l'efficacité d'une colonne augmente, entraînant des pics plus fins, de meilleures séparations et des limites de détection plus faibles. De plus, selon la théorie de chromatographie dynamique de Van Deemter, la vitesse linéaire optimale de la phase mobile dans les colonnes à fines particules (moins de 2  $\mu\text{m}$ ) est supérieure à celle des colonnes traditionnelles (5 à 3,5  $\mu\text{m}$ ), impliquant des séparations plus rapides, donc des temps d'analyse plus courts (Gervais *et al.*, 2008), et des colonnes pour UHPLC de dimensions plus faibles que les colonnes traditionnelles. L'ensemble permet une diminution de la consommation de solvants organiques. Cependant, travailler avec ce type de colonnes implique de fortes pertes de charge, selon la loi de Darcy et donc la nécessité de réaliser des séparations à très haute pression. Le développement de l'UHPLC ne pouvait se réaliser qu'à condition de créer des systèmes chromatographiques capables de résister à ces très hautes pressions (Churchwell *et al.*, 2005). Depuis 5 ans, plusieurs chromatographes compatibles à l'UHPLC ont été commercialisés.

### II.2.3. DETECTION DES ANALYTES

Plusieurs types de détecteurs sont utilisés pour l'analyse par chromatographie liquide des perturbateurs endocriniens. Les détecteurs électrochimiques et à absorbance et fluorescence UV sont spécifiques aux propriétés physicochimiques des molécules cibles, et le spectromètre de masse est un détecteur universel.

#### II.2.3.1. Détection électrochimique

Certains perturbateurs endocriniens sont détectables par électrochimie. Cette méthode s'adresse aux composés doués de propriétés oxydo-réductrices. Son principe repose sur la

mesure du courant qui circule dans une cellule d'électrolyse lors de l'oxydation ou de la réduction du soluté contenu dans la phase mobile (Rosset *et al.*, 1982). Sajiki *et al.* (1999) ont utilisé ce mode de détection pour l'analyse d'échantillons de sang dopés avec du bisphénol A. Ce plastifiant et certains composés phénoliques ont également été détectés dans des échantillons biologiques par électrochimie (Sajiki *et al.*, 1999; Ouchi et Watanabe, 2002). Ce détecteur est utilisé pour l'analyse de ce type de composés présents dans les échantillons biologiques car il leur est spécifique. C'est un appareil qui requiert peu de maintenance et peut être utilisé en routine.

Néanmoins, pour l'analyse des perturbateurs endocriniens dans les échantillons environnementaux, le détecteur électrochimique est moins utilisé que le détecteur à absorbance ou à fluorescence UV. Les limites de détection atteintes pour le bisphénol A et le glucuronide associé par la méthode de Ouchi et Watanabe (2002) sont de  $0,2 \text{ ng.mL}^{-1}$ , avec un facteur de concentration de 5.

### II.2.3.2. Absorbance et Fluorescence UV

La structure moléculaire des perturbateurs endocriniens permet souvent de les détecter par absorbance ou fluorescence UV. La détection fluorimétrique est légèrement différente de celle par absorbance, puisqu'elle se base sur les caractéristiques de la lumière émise lors du retour à l'état initial d'une molécule ayant absorbé un rayonnement UV. Certaines particularités dans la structure moléculaire de l'analyte telles que sa rigidité et la conjugaison des doubles liaisons sont à l'origine de la fluorescence. Cette technique est donc plus spécifique que l'absorbance et permet d'atteindre des limites de détection inférieures. Le tableau I.20 recense quelques méthodes d'analyse des perturbateurs endocriniens qui emploient la détection par absorbance et fluorescence ainsi que leurs limites de détection et quantification associées. Il montre que l'absorption UV permet d'atteindre des gammes de concentrations de l'ordre du  $\text{ng.L}^{-1}$  à condition de concentrer l'échantillon par un facteur 10 000 (Boti *et al.*, 2007). Par ailleurs, la détection par fluorescence permet d'atteindre une limite de détection entre 200 et 310  $\text{ng.L}^{-1}$  sans concentration (Yoon *et al.*, 2003). Ceci peut laisser penser qu'avec une concentration de l'échantillon d'un facteur 10 000, cette méthode permettrait d'atteindre une limite de détection entre 0,02 et 0,031  $\text{ng.L}^{-1}$ .

Tableau I.20. Caractéristiques de l'analyse par HPLC couplée à un détecteurs UV et à Fluorescence de certains perturbateurs endocriniens

Extraction	Molécules	Détection	$\lambda$ (nm)	FC	$L_b$ ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ )	Références
SPME on line	BPA, NP, Phtalates	UV	225	-	-	Mitani <i>et al.</i> , 2003
LLE	Phtalates	UV	254	-	400-600	De Orsi <i>et al.</i> , 2006
SBSE	Hormones	UV	200 et 240	300	0,3-1	Almeida et Nogueira, 2006
SPE off line	Pesticides	UV	248, 250 et 252	10000	0,0013-0,0112	Boti <i>et al.</i> , 2007
MAE	NP, NPEO	Fluo	Ex 222 Em 305	> 1000	35-55	Fountoulakis <i>et al.</i> , 2005
-	BPA, EE2	Fluo	Ex 280 Em 310	-	0,20-0,31	Yoon <i>et al.</i> , 2003
-	BPA, NP	Fluo	Ex 354 Em 545	-	1-5	Naassner <i>et al.</i> , 2002
SPME on line	BPA	Fluo	Ex 280 Em 330	-	-	Fan <i>et al.</i> , 2005
LLE	NP	UV	277	10	-	Xia et Jeong, 2004
		Fluo	Ex 230 Em 301			

BPA : Bisphénol A ; NP : Nonylphénol ; NPEO : Ethoxylates de nonylphénol ; EE2 : Ethinylestradiol  
 FC : Facteur de concentration, Ex : Excitation, Em : Emission

De nombreux perturbateurs endocriniens sont détectables par leur fluorescence naturelle. Lors de l'analyse d'échantillons naturels, des interférents qui fluorescent aux longueurs d'ondes de travail peuvent gêner la détection et donc la quantification. Naassner *et al.* (2002) se sont confrontés à ce problème pour l'analyse du bisphénol A et du nonylphénol dans des boues. Ils se sont affranchis des interférents en dérivant les analytes d'intérêts. De cette façon, ils ont changé de longueurs d'onde de travail pour les composés dérivés et ont pu quantifier les traces de perturbateurs endocriniens de manière plus précise.

### II.2.3.3. Spectrométrie de masse

La chromatographie liquide couplée à la détection par spectrométrie de masse (LC-MS) est une méthode d'analyse courante pour les micropolluants environnementaux tels que les perturbateurs endocriniens. Elle connaît depuis une vingtaine d'années un développement perpétuel et est notamment à l'origine des seuils de détections les plus bas atteints (Barcelo et Petrovic, 2007). Le développement de la technologie tandem (MS/MS), aussi bien couplée à la chromatographie gazeuse que liquide, a permis de gagner en sélectivité et d'abaisser davantage les limites de détection de micropolluants environnementaux. Les récentes évolutions de la technique tandem se traduisent par des instruments hybrides qui offrent les avantages des deux technologies couplées. Ainsi, un spectromètre de masse tandem quadripôle-temps de vol (Qq-



TOF), permettra une grande vitesse de scans et des mesures de masses justes (Barcelo et Petrovic, 2007). Le tableau I.21 recense quelques méthodes d'analyse par LC-MS et LC-MS/MS de perturbateurs endocriniens ainsi que leurs limites de détection et de quantification.

Tableau I.21. Caractéristiques et limites de détection et de quantification de méthodes d'analyse des perturbateurs endocriniens

Extraction	Analyse	Analyseur	FC	L <sub>D</sub> (ng.L <sup>-1</sup> )	L <sub>Q</sub> (ng.L <sup>-1</sup> )	Références
SPE off line	LC-MS	Qq-TOF	100-500	10-500	-	Petrovic <i>et al.</i> , 2006
SPE off line	LC-MS	-	20000	0,4-118,7	-	Famigliani <i>et al.</i> , 2005
SPE off line	LC-MS/MS	Ion Trap	2500	0,1-20	1-40	Benijts <i>et al.</i> , 2004
SPE off line	LC-MS/MS	QqQ	1000-1700	0,5-3	-	Farré <i>et al.</i> , 2006
SPE off line	LC-MS	Qq-TOF	2000	5- 30	-	Farré <i>et al.</i> , 2007
	LC-MS/MS	QqQ	1000	0,4-1	-	
SPE off line	LC-MS/MS	QqQ	50000-250000	0,02-1	-	Beck <i>et al.</i> , 2005
SPE off line	LC-MS/MS	QqQ	2700	0,04-3	-	Loyo-Rosales <i>et al.</i> , 2003
SPE on line	LC-MS/MS	QqQ	-	0,01-0,38	0,02-1,02	Rodriguez-Mozaz <i>et al.</i> , 2004b
SPE on line	LC-MS/MS	QqQ	-	0,004-2,8	0,011-7,4	Kampioti <i>et al.</i> , 2005

QqQ : Triple quadripole ; TOF : Time of Flight

Les données présentées montrent que la détection en spectrométrie de masse tandem permet d'atteindre des limites de détection globalement plus basses qu'en spectrométrie de masse simple. Elle offre également une sélectivité plus importante que les analyseurs du type simple quadripôle. En effet, cette technique permet de fragmenter les molécules ionisées dans la source et de suivre la formation des ions fils caractéristiques générés. Dans le cas de la détection d'ions parents de même masse, la fragmentation permet souvent de les différencier.

En conclusion on retiendra que la détection des perturbateurs endocriniens lors de leur analyse peut être effectuée grâce à plusieurs techniques. Parmi ces techniques, la détection par spectrométrie de masse se démarque. Elle a permis à la chromatographie liquide de devenir une méthode d'analyse bien établie dans le domaine environnemental (Barcelo et Petrovic, 2007).

## II.2.4. CONCLUSION

Les perturbateurs endocriniens sont des molécules qui peuvent générer une réponse de récepteurs estrogéniques. Cette propriété -à l'origine de la problématique environnementale- rend possible leur analyse par des tests immunologiques et biologiques. Ces méthodes permettent un dosage qualitatif rapide mais, bien que sensibles, elles restent semi-quantitative en

raison de leur manque de spécificité. Ces tests constituent une très bonne technique d'analyse préliminaire, surtout dans le cas d'une grande quantité d'échantillons, avant la confirmation des concentrations exactes par des méthodes d'analyse chimique. Le large spectre de polarité des perturbateurs endocriniens engendre un grand nombre de techniques d'analyse chimique possibles. La chromatographie en phases liquide et gazeuse permet une analyse adaptée à cette hétérogénéité dans les propriétés physico-chimiques. Compte tenu de leur présence dans des matrices complexes et variées, des techniques de traitement de l'échantillon sont largement employées dans les méthodes d'analyse des perturbateurs endocriniens. L'extraction sur phase solide est une des techniques les plus employées et permet non seulement de séparer les analytes de leur matrice mais également d'en effectuer la purification et la concentration simultanément. Enfin, la détection des perturbateurs endocriniens peut être effectuée au moyen de différentes techniques, de sensibilité et de sélectivité variables. Les méthodes spectroscopiques d'absorption ou de fluorescence UV possèdent des sensibilités suffisantes pour la quantification des perturbateurs endocriniens contenus dans les échantillons. Cependant, outre sa grande sensibilité, la spectrométrie de masse est une méthode de détection de choix dans le domaine environnemental en raison de son caractère à la fois universel et spécifique.

### II.3. VALIDATION DE METHODE D'ANALYSE

Une fois les étapes de traitement de l'échantillon, de séparation chromatographique et de détection optimisées, la dernière étape avant l'application en routine d'une méthode d'analyse est la validation. Cette étape consiste en sa caractérisation selon des critères statistiques précis et en la comparaison des résultats obtenus avec des valeurs critiques établies par un organisme indépendant. Une méthode d'analyse dite validée est certifiée d'une qualité et d'une fiabilité reconnues par les utilisateurs de la méthode.

L'Association Française de Normalisation (AFNOR, 1997), la Société Française des Sciences et Techniques Pharmaceutiques (SFSTP) (Hubert et al. 2004; Hubert et al. 2007a; Hubert et al. 2007b; Hubert et al. 2008), et l'Union Internationale de Chimie Pure et Appliquée (International Union of Pure and Applied Chemistry, IUPAC) (Thompson et al. 2002) proposent chacune un protocole expérimental détaillé pour évaluer les performances et valider une méthode d'analyse. Les caractéristiques communes aux trois organismes, recommandées pour la validation sont les suivantes :

- *La linéarité* d'une procédure analytique est sa capacité, dans un intervalle de mesure déterminé, de donner des résultats directement proportionnel à la quantité (par ex. : la concentration) d'un analyte dans un échantillon. On cherchera ici à établir, au moyen d'une régression, une droite d'étalonnage, c'est-à-dire à déterminer les paramètres du modèle mathématique linéaire (Eq. 1.1) qui définit une valeur instrumentale (par ex. : l'aire d'un pic chromatographique) en fonction de la quantité de l'analyte dans l'échantillon. La qualité du lien entre les deux variables sera évaluée par le coefficient de corrélation ( $r^2$ ) de la droite d'étalonnage.

$$y = B + A \cdot x + \varepsilon \quad (1.1)$$

où  $y$  est le signal ou la réponse observé(e),  $B$  est l'ordonnée à l'origine ou réponse du blanc (solution ayant subi le même protocole mais ne contenant pas l'analyte),  $A$  est la pente ou sensibilité,  $x$  est la quantité de l'analyte et  $\varepsilon$  est l'erreur, en principe aléatoire et suivant une loi de distribution normale, centrée en 0 (sans biais) et d'écart-type  $\sigma_\varepsilon$ .

- *L'exactitude* est composée de la *justesse* et de la *répétabilité*. Il s'agit d'évaluer l'étroitesse de l'accord entre la mesure et la valeur conventionnellement vraie. La justesse est évaluée par le biais (l'erreur systématique), et la répétabilité par l'écart-type relatif (RSD), correspondant à l'erreur aléatoire. Ces deux paramètres sont définis séparément dans les protocoles de validation recommandés par l'AFNOR et l'IUPAC. La SFSTP évalue l'exactitude d'une méthode à l'aide d'un profil d'exactitude.

#### - *Les limites de la méthode*

Ces paramètres représentent les limites du domaine, au-delà desquelles l'analyse n'est plus certifiée par la validation. L'AFNOR et IUPAC définissent deux limites basses : une limite de détection et une limite de quantification tandis que la SFSTP recommande la détermination de limites de quantification inférieure et supérieure.

### II.3.1. DETERMINATION DE LA LINEARITE

L'erreur  $\varepsilon$  peut être estimée à partir des mesures et de l'ajustement d'un modèle linéaire entre  $x$  et  $y$ . Soit le modèle :

$$y_{i,c} = b + a \cdot x_i \quad (1.2)$$

où  $b$  est une estimation de la valeur vraie de  $B$ , et  $a$  une estimation de la pente vraie  $A$ ,  $x_i$  une concentration d'étalonnage de l'analyte et  $y_{i,c}$  la valeur calculée de la réponse  $y$ .

Une estimation de  $\epsilon_i$ , peut être obtenue par le résidu,  $e_i$ , entre la réponse expérimentale à la valeur prédite par le modèle :

$$\epsilon_i \approx e_i = y_i - (b + a \cdot x_i) \quad (1.3)$$

Plus le modèle sera exact et les estimations  $a$  et  $b$  justes, plus l'estimation de l'erreur  $e$  sera proche de l'erreur aléatoire de mesure.

Avec le meilleur modèle possible,  $e_i$  devrait donc être aléatoire et suivre une loi de distribution normale, centrée en 0 (sans biais) et d'écart-type  $\sigma_{\epsilon_i}$ . La densité de probabilité sera donc :

$$f(e_i) = \frac{1}{(\sqrt{2 \cdot \pi})} \cdot \frac{1}{\sigma_{\epsilon_i}} \cdot e^{-\frac{1}{2} \frac{e_i^2}{\sigma_{\epsilon_i}^2}} \quad (1.4)$$

Lors de la recherche de la linéarité, nous n'aurons pas un mais plusieurs couples  $(x_i, y_i)$ , correspondants à différentes concentrations, soit liés à des répliques de la réponse ( $x_i$  identiques). L'ensemble des erreurs peuvent être regroupées sous la forme d'un vecteur  $E$ . Ce vecteur devrait donc suivre la densité de probabilité normale multidimensionnelle :

$$f(E) = \frac{1}{(\sqrt{2 \cdot \pi})^n} \cdot \frac{1}{\sqrt{|\Omega|}} \cdot e^{-\frac{1}{2} E^T \cdot \Omega^{-1} \cdot E} \quad (1.5)$$

Où  $n$  est le nombre de couples  $(x_i, y_i)$  et  $\Omega$  la matrice de variance-covariance des erreurs.

La meilleure solution pour  $a$  et  $b$  sera celle qui minimisera le produit  $(E^T \cdot \Omega^{-1} \cdot E)$ , puisqu'elle conduira à la plus grande probabilité que le vecteur  $E$  appartienne effectivement à la loi normale de moyenne 0 et de variance  $\Omega$ .

Soit les représentations vectorielles suivantes :

$$Y = \begin{bmatrix} y_1 \\ \vdots \\ y_i \\ \vdots \\ y_n \end{bmatrix} \quad \beta = \begin{bmatrix} a \\ b \end{bmatrix} \quad X^T = \begin{bmatrix} 1 & x_1 \\ \vdots & \vdots \\ 1 & x_i \\ \vdots & \vdots \\ 1 & x_n \end{bmatrix} \quad E = \begin{bmatrix} e_1 \\ \vdots \\ e_i \\ \vdots \\ e_n \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} y_1 - b - a \cdot x_1 \\ \vdots \\ y_i - b - a \cdot x_i \\ \vdots \\ y_n - b - a \cdot x_n \end{bmatrix} = Y - X^T \cdot \beta$$

On peut montrer que

$$\beta = \left( X \cdot \Omega^{-1} \cdot X^T \right)^{-1} \cdot X \cdot \Omega^{-1} \cdot Y \quad (1.6)$$

Et que

$$\text{var}(\beta) = \left( X \cdot \Omega^{-1} \cdot X^T \right)^{-1} \quad (1.7)$$

La principale difficulté dans ce calcul est qu'il est très rare de disposer de la vraie matrice de variance-covariance de l'erreur. Une première hypothèse est alors de considérer les erreurs comme indépendantes, i.e.  $\text{cov}(\epsilon_i, \epsilon_j) = 0$  quand  $i \neq j$ . Ce qui permet de supposer que la matrice  $\Omega$  est diagonale.

La seconde hypothèse concerne l'homoscédasticité, ou l'hétéroscédasticité, de la distribution des erreurs, c'est à dire que la variance de l'erreur est indépendante, ou non, de la valeur de la réponse.

### II.3.1.1. Homoscédasticité des variances de l'erreur

C'est l'hypothèse la plus fréquemment utilisée. La matrice  $\Omega$  peut alors se résumer en une matrice Identité que multiplie la variance commune à toutes les erreurs.

$$\Omega = \sigma_\epsilon^2 \cdot \begin{bmatrix} 1 & \dots & 0 & \dots & 0 \\ \vdots & \ddots & & & \vdots \\ 0 & & 1 & & 0 \\ \vdots & & & \ddots & \vdots \\ 0 & \dots & 0 & \dots & 1 \end{bmatrix} \quad (1.8)$$

Cette solution a l'avantage de conduire à une solution simple car alors :

$$\beta = \left( X \cdot X^T \right)^{-1} \cdot X \cdot Y \quad (1.9)$$

Et pour la variance d'échantillonnage

$$\text{var}(\beta) = \sigma_\epsilon^2 \cdot \left( X \cdot X^T \right)^{-1} \quad (1.10)$$

En fait, les formes vectorielles présentées ci-dessus sont valables également s'il y a plusieurs variables explicatives (dans le cas de modèles multilinéaires du type  $y = b + a_x \cdot x + a_z \cdot z + \dots$ ).

Lorsqu'il n'y a qu'une seule variable explicative, le développement de ces équations conduit aux formules bien connues (Inczedy *et al.*, 1997) :

$$\beta_0 = b = \bar{y} - \bar{x} \cdot \frac{\sum x_i \cdot y_i - n \cdot \bar{x} \cdot \bar{y}}{\left(\sum x_i^2 - n \cdot \bar{x} \cdot \bar{x}\right)} \quad \text{et} \quad \beta_1 = a = \frac{\sum x_i \cdot y_i - n \cdot \bar{x} \cdot \bar{y}}{\left(\sum x_i^2 - n \cdot \bar{x} \cdot \bar{x}\right)} \quad (1.11)$$

$$\text{Avec } \bar{x} = \frac{\sum x_i}{n} \quad \bar{y} = \frac{\sum y_i}{n}$$

La variance de l'erreur  $\sigma_e^2$ , n'étant en général pas connue, elle est approximée par une estimation basée sur les résidus.

$$\sigma_e^2 \approx s_e^2 = \frac{1}{n-2} \cdot \sum_{i=1}^n e_i^2 = \frac{1}{n-2} \cdot \mathbf{E}^T \cdot \mathbf{E} \quad (1.12)$$

Ce qui permet ensuite d'accéder aux variances d'échantillonnage des coefficients de la régression :

$$\text{var}(\beta) = \begin{bmatrix} s_b^2 & \text{cov}(b, a) \\ \text{cov}(b, a) & s_a^2 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} s_e^2 \cdot \left( \frac{1}{n} + \frac{\bar{x} \cdot \bar{x}}{\sum x_i^2 - \sum x_i \cdot \bar{x}} \right) & s_e^2 \cdot \left( -\frac{\bar{x}}{\sum x_i^2 - \sum x_i \cdot \bar{x}} \right) \\ s_e^2 \cdot \left( -\frac{\bar{x}}{\sum x_i^2 - \sum x_i \cdot \bar{x}} \right) & s_e^2 \cdot \left( \frac{1}{\sum x_i^2 - \sum x_i \cdot \bar{x}} \right) \end{bmatrix} \quad (1.13)$$

La linéarité est ensuite étudiée en examinant le coefficient de régression  $R^2$  qui, si l'hypothèse d'un modèle de droite est correcte, équivaut au coefficient de corrélation  $r^2$ .

$$R^2 = 1 - \frac{\sum (y_{c,i} - y_i)^2}{\sum (y_i - \bar{y})^2} \quad r = \frac{\text{cov}(x, y)}{s_y \cdot s_x} = \frac{\sum (y_i - \bar{y}) \cdot (x_i - \bar{x})}{\sqrt{\sum (y_i - \bar{y})^2 \cdot \sum (x_i - \bar{x})^2}} \quad (1.14)$$

Le coefficient de régression n'est pas directement une information statistiquement significative mais il permet de déterminer une autre variable t :

$$t = \frac{\sqrt{R^2 \cdot (n-2)}}{\sqrt{1-R^2}} \quad (1.15)$$

La variable t doit suivre une loi de Student à (n-2) degrés de liberté s'il n'y a pas de corrélation linéaire. Il est donc possible de définir une valeur de t minimale qu'il faut dépasser pour pouvoir affirmer, avec un risque inférieur ou égal à  $\alpha$  % de se tromper, que t n'appartient pas à cette loi et donc qu'une corrélation statistiquement significative existe. Les valeurs de la loi de Student peuvent être déterminées dans des tables et de nombreux tableurs possèdent une fonction de calcul prédéfinie.

Il est aussi possible d'utiliser un test de Fischer avec :

$$F = \frac{R^2 \cdot (n-2)}{1-R^2} \quad (1.16)$$

La variable F doit suivre une loi de Fischer à ( $\nu_1 = 1$ ) et ( $\nu_2 = n - 2$ ) degrés de liberté s'il n'y a pas de corrélation linéaire. Il est donc possible de définir une valeur de F minimale qu'il faut dépasser pour pouvoir affirmer, avec un risque inférieur ou égal à  $\alpha$  % de se tromper, que F n'appartient pas à cette loi et que donc une corrélation statistiquement significative existe. Les valeurs de la loi de Fisher, également appelé Fisher-Snédecor ou loi F, peuvent être déterminées dans des tables et de nombreux tableurs possèdent une fonction de calcul prédéfinie.

Le coefficient de régression correspond à la part de la variabilité globale expliquée par le modèle sans faire plus de distinction. Lorsque l'on dispose de répétition des mesures aux différents niveaux, il est possible de distinguer l'erreur purement expérimentale et l'erreur du modèle : biais entre la valeur calculée de y pour une valeur  $x_i$  et la moyenne des  $y_i$  mesurées pour ce niveau. Si la variance de ce biais est significativement différente de la variance de l'erreur expérimentale, il faudra réduire le domaine d'étalonnage pour se retrouver dans une situation de validité « locale » de la forme du modèle (AFNOR).

La variance de l'erreur expérimentale de m répétitions à n niveaux se calcule selon :

$$s_{ex}^2 = \frac{1}{n \cdot (m-1)} \sum_{i=1,n} \left( \sum_{j=1,m} (y_{ij} - \bar{y}_i)^2 \right) \quad (1.17)$$

Et la variance du biais par :

$$s_{nl}^2 = \frac{1}{(n-2)} \sum_{i=1,n} (\bar{y}_i - (b + a \cdot x_i))^2 \quad (1.18)$$

Le rapport de ces deux variances suit une loi F si les deux estimations sont issues de la même population, i.e.  $s_{nl}^2$  n'est pas statistiquement différent de  $s_{ex}^2$ . Il faut donc :

$$\frac{s_{nl}^2}{s_{ex}^2} < F_{n-2, n(m-1), \alpha\%} \quad (\text{correspond au } F_{nl} \text{ de l'AFNOR}) \quad (1.19)$$

pour que le domaine soit validé.

Dans ce cas, la validité du modèle peut être vérifiée par un autre test : dans un modèle parfait, la corrélation serait de 1, on peut donc en déduire la variance des y « parfaits » :

$$r = \frac{\text{cov}(x, y)}{s_y \cdot s_x} = 1 \quad \rightarrow \quad \frac{\text{cov}^2(x, y)}{s_x^2} = s_{y_c}^2 = \frac{\left( \sum_{i=1, n} \sum_{j=1, m} (x_i - \bar{x})(y_{ij} - \bar{y}) \right)^2}{\sum_{j=1, n} m \cdot (x_i - \bar{x})^2}$$

Cette variance doit être significativement plus grande que celle de l'erreur expérimentale pour valider l'emploi d'un modèle de régression linéaire.

$$\frac{s_{y_c}^2}{s_{ex}^2} > F_{1, n(m-1), \alpha\%} \quad (\text{correspond au } F_1 \text{ de l'AFNOR}) \quad (1.20)$$

### II.3.1.2. Hétéroscédasticité des variances de l'erreur

La plupart des documents de référence (AFNOR, IUPAC) signale cette difficulté mais ne détaillent pas la procédure à utiliser. Ils se limitent à indiquer qu'il faut faire appel à une régression pondérée.

Prenons le cas d'une pondération quelconque. Chaque équation est multipliée de part et d'autre par un facteur de pondération comme indiqué ci-dessous :

$$y_i = B + A \cdot x_i + \varepsilon_i \quad \text{devient} \quad u_i \cdot y_i = u_i \cdot B + A \cdot u_i \cdot x_i + u_i \cdot \varepsilon_i \quad (1.21)$$

Ou plus généralement

$$\eta \cdot Y = \eta \cdot X^T \cdot \hat{\beta} + \eta \cdot E \quad (1.22)$$

$$\text{Avec } \eta = \begin{bmatrix} u_1 & \dots & 0 & \dots & 0 \\ \vdots & \ddots & & & \vdots \\ 0 & & u_i & & 0 \\ \vdots & & & \ddots & \vdots \\ 0 & \dots & 0 & \dots & u_n \end{bmatrix}$$

En procédant à un changement de variables ( $\tilde{Y} = \eta \cdot Y$ ;  $\tilde{X}^T = \eta \cdot X^T$ ;  $\tilde{E} = \eta \cdot E$ ), il apparait rapidement que la régression consiste à trouver la solution de



$$\underset{\beta}{\text{Min}} (\tilde{\text{E}}^T \cdot \tilde{\Omega}^{-1} \cdot \tilde{\text{E}}) \quad (1.23)$$

On montre facilement que

$$\tilde{\Omega} = \text{var}(\tilde{\text{E}}) = \eta \cdot \Omega \cdot \eta^T \quad (1.24)$$

Il apparait alors assez évident que choisir  $\eta$  et  $\sigma_{\tilde{\varepsilon}}^2$  tel que  $\eta \cdot \Omega \cdot \eta^T = \sigma_{\tilde{\varepsilon}}^2 \cdot \text{I}$ , I est la matrice identité, permettrait de revenir à un problème homoscédastique avec des solutions du même type

$$\beta = (\tilde{\text{X}} \cdot \tilde{\text{X}}^T)^{-1} \cdot \tilde{\text{X}} \cdot \tilde{\text{Y}} \quad (1.25)$$

et  $\text{var}(\beta) = \sigma_{\tilde{\varepsilon}}^2 \cdot (\tilde{\text{X}} \cdot \tilde{\text{X}}^T)^{-1}$

Il faut donc choisir  $\eta$  tel que

$$\sigma_{\tilde{\varepsilon}}^2 \cdot \eta^T \cdot \eta = \Omega^{-1} \quad (1.26)$$

En réalité, la valeur de  $\sigma_{\tilde{\varepsilon}}^2$  est sans importance car elle s'éliminera au cours des divers calculs. Pouvant être arbitraire, nous nous contenterons de la prendre égale à 1.

$$\eta^T \cdot \eta = \begin{bmatrix} u_1^2 & \dots & 0 & \dots & 0 \\ \vdots & \ddots & & & \vdots \\ 0 & & u_i^2 & & 0 \\ \vdots & & & \ddots & \vdots \\ 0 & \dots & 0 & \dots & u_n^2 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \sigma_{\varepsilon_1}^{-2} & \dots & 0 & \dots & 0 \\ \vdots & \ddots & & & \vdots \\ 0 & & \sigma_{\varepsilon_i}^{-2} & & 0 \\ \vdots & & & \ddots & \vdots \\ 0 & \dots & 0 & \dots & \sigma_{\varepsilon_n}^{-2} \end{bmatrix} = \Omega^{-1} \quad (1.27)$$

Il est facile de retrouver la relation des moindres carrés pondérés en renommant  $u_i^2$  par  $w_i$  :

$$\tilde{\text{E}}^T \cdot \tilde{\Omega}^{-1} \cdot \tilde{\text{E}} = \sum_{i=1}^n (u_i \cdot y_i - u_i \cdot y_{c,i})^2 = \sum_{i=1}^n u_i^2 \cdot (y_i - y_{c,i})^2 = \sum_{i=1}^n w_i \cdot (y_i - y_{c,i})^2 \quad (1.28)$$

Dans le cas d'une régression à une seule variable explicative, cela conduit aux formules équivalentes à celles (1.11) :

$$\beta_0 = b = \bar{y}_w - \bar{x}_w \cdot \frac{\sum w_i \cdot x_i \cdot y_i - \bar{x}_w \cdot \bar{y}_w \cdot \sum w_i}{\left( \sum w_i \cdot x_i^2 - \bar{x}_w \cdot \bar{x}_w \cdot \sum w_i \right)} \quad \text{et} \quad (1.29)$$

$$\beta_1 = a = \frac{\sum w_i \cdot x_i \cdot y_i - \bar{x}_w \cdot \bar{y}_w \cdot \sum w_i}{\left( \sum w_i \cdot x_i^2 - \bar{x}_w \cdot \bar{x}_w \cdot \sum w_i \right)}$$

$$\text{Avec } \bar{x}_w = \frac{\sum w_i \cdot x_i}{\sum w_i} \quad \bar{y}_w = \frac{\sum w_i \cdot y_i}{\sum w_i}$$

Il est facile de vérifier que prendre  $w_i = 1$  permet de retrouver les équations (1.11).

Il reste cependant une difficulté : l'idéal serait de prendre  $w_i = \sigma_{\varepsilon_i}^{-2}$ , malheureusement, comme nous l'avons déjà indiqué, les  $\sigma_{\varepsilon_i}^2$  ne sont pas connues.

L'approche la plus généralement employée est de considérer une loi de variation de l'écart-type de l'erreur en fonction de la valeur de la réponse ou de celle de la variable explicative.

$$\sigma_{\varepsilon_i} \approx s_{\varepsilon, \text{ref}} \cdot h(x_i) \quad (1.30)$$

En réalité, la valeur  $s_{\varepsilon, \text{ref}}$  n'est pas nécessaire à l'obtention des paramètres du modèle car, les facteurs de pondération apparaissant au même degré au numérateur et au dénominateur des différents termes, cette constante se simplifie. Seule la fonction  $h(x)$  est nécessaire au départ.

$$s_{y_{x_i}} \approx s_{y, \text{ref}} \cdot h(x_i) \quad (1.31)$$

Les relations les plus classiques proposées dans la littérature et les logiciels de traitement de signal sont :

$$h(x_i) = \sqrt{x_i} \quad \rightarrow \quad w_i = \frac{1}{x_i} \quad \text{Hubert } et al. (2007) \quad (1.32)$$

$$h(x_i) = x_i \quad \rightarrow \quad w_i = \frac{1}{x_i^2} \quad \text{Hubert } et al. (2007) \quad (1.33)$$

D'autres relations, plus élaborées, ont également été proposées :

$$h(x_i) = 1 + \mu \cdot x_i \quad \rightarrow \quad w_i = \frac{1}{h^2(x_i)} \quad \text{Voigtman (2008a)} \quad (1.34)$$

$$h(x_i) = 1 + \mu \cdot x_i + \rho \cdot x_i^2 \quad \text{Voigtman (2008a)} \quad (1.35)$$

$$h(x_i) = 1 + \rho \cdot x_i^2 \quad \text{Voigtman (2008a)} \quad (1.36)$$

Les fonctions (1.32) et (1.33) n'ont pas besoin de paramétrage et peuvent donc être utilisées directement. En faisant l'hypothèse que toute l'erreur se concentre sur la réponse  $y$ , les

autres fonctions  $h(x_i)$  peuvent être calées à partir de la variance des répétitions pour les différentes concentrations d'étalonnage.

Une fois la solution obtenue, la variance de l'erreur peut être estimée à partir de :

$$s_e^2 = \frac{1}{n-2} \cdot \tilde{\mathbf{E}}^T \cdot \tilde{\mathbf{E}} \quad (1.37)$$

Il est également possible d'estimer les variances d'échantillonnage des paramètres par :

$$\begin{bmatrix} s_b^2 & \text{cov}(b,a) \\ \text{cov}(b,a) & s_a^2 \end{bmatrix} \approx s_{\epsilon, \text{ref}}^2 \cdot \begin{bmatrix} \left( \frac{1}{\sum w_i} + \frac{\bar{x}_w \cdot \bar{x}_w}{\sum w_i \cdot x_i^2 - \bar{x}_w \cdot \sum w_i \cdot x_i} \right) & \left( -\frac{\bar{x}_w}{\sum w_i \cdot x_i^2 - \bar{x}_w \cdot \sum w_i \cdot x_i} \right) \\ \left( -\frac{\bar{x}_w}{\sum w_i \cdot x_i^2 - \bar{x}_w \cdot \sum w_i \cdot x_i} \right) & \left( \frac{1}{\sum w_i \cdot x_i^2 - \bar{x}_w \cdot \sum w_i \cdot x_i} \right) \end{bmatrix} \quad (1.38)$$

La linéarité est ensuite étudiée en examinant le coefficient de régression  $R^2$  qui, si l'hypothèse d'un modèle de droite est correct équivaut au coefficient de corrélation  $r^2$  appliqué aux valeurs pondérées.

$$R^2 = 1 - \frac{\sum w_i \cdot (y_{c,i} - y_i)^2}{\sum w_i \cdot (y_i - \bar{y})^2} \quad (1.39)$$

$$r^2 = \frac{\text{cov}(\tilde{x}, \tilde{y})}{s_{\tilde{y}} \cdot s_{\tilde{x}}} = \frac{\sum w_i \cdot (y_i - \bar{y}_w) \cdot (x_i - \bar{x}_w)}{\sqrt{\sum w_i \cdot (y_i - \bar{y}_w)^2 \cdot \sum w_i \cdot (x_i - \bar{x}_w)^2}}$$

Suivi du même test de Student que dans le cas homoscédastique.

Certains logiciels, tel PASW Statistics 18 (anciennement nommé SPSS Statistics) (SPSS, 2009) propose de rechercher la meilleure fonction  $h(x)$ , parmi un jeu de fonctions proposées, souvent du type (1.32) avec une puissance variable, en examinant la fonction de log-vraisemblance  $L$ , qui est en fait le logarithme de la fonction (1.5) adaptée à ce cas particulier :

$$L = -\frac{n}{2} \cdot \text{Ln}(2 \cdot \pi) - \frac{n}{2} \cdot \text{Ln}(s_e^2) - \frac{1}{2} \cdot \sum_n \text{Ln}(h_i) - \frac{1}{2 \cdot s_e^2} \sum_n \left( \frac{e_i^2}{h_i^2} \right) \quad (1.40)$$

La meilleure solution sera celle qui maximisera la fonction  $L$ .

### II.3.2. EXACTITUDE DE LA METHODE D'ANALYSE ET DES RESULTATS

L'exactitude d'une méthode est évaluée de l'extérieur, des échantillons de concentrations parfaitement connues, appelées conventionnellement vraies, parfois identiques, sont traités en aveugle par un laboratoire ou un manipulateur. Après analyse, ses résultats sont comparés à ceux d'autres laboratoires ou aux résultats attendus.

La justesse de la méthode consiste alors à vérifier que l'intervalle de confiance à  $(1-\alpha)$  % des résultats,  $x_{c,i}$ , contient effectivement la valeur conventionnellement vraie,  $x_i$ .

$$\frac{|x_{i,c} - x_i|}{s_{x_c}} \leq t_{v,0,99} \quad (1.41)$$

La variance étant estimée, il s'agit d'un test de Student, l'AFNOR (XP T 90-210) propose une valeur t de 3 pour un risque maximum  $\alpha$  de 1 %, ce qui correspond à un nombre de degré de libertés, v, minimum de 13, soit au moins 14 mesures.

La répétabilité de la méthode consiste à vérifier que la variance observée sur les mesures répétées d'un échantillon ne diffère pas significativement des variances d'autres échantillons. Pour cela, la contribution de la plus grande variance à la somme de toutes les variances est évaluée et comparée, par un test de Cochran, à une contribution limite qui n'a qu'une chance sur 100 d'être dépassée si les variances sont homogènes.

$$\frac{s_{x_c, \max}^2}{\sum s_{x_c, i}^2} \leq g_{1\%} \quad (1.42)$$

Les valeurs de g à ne pas dépasser sont données dans des tables (AFNOR, 1999).

Il est à noter que ce test est susceptible d'être mis en défaut lorsque les mesures sont hétéroscédastiques et que les échantillons n'ont pas des concentrations similaires d'analyte.

La SFSTP utilise une approche légèrement différente. Elle détermine pour chaque niveau d'analyte l'intervalle de l'erreur :

$$(\bar{x}_i - \bar{x}_{c,i}) + t_{v,\alpha} \cdot s_{(\bar{x}_i - \bar{x}_{c,i})} \leq e \leq (\bar{x}_i - \bar{x}_{c,i}) + t_{v,\alpha} \cdot s_{(\bar{x}_i - \bar{x}_{c,i})} \quad (1.43)$$

$$\text{ou en relatif : } \frac{(\bar{x}_i - \bar{x}_{c,i})}{\bar{x}_i} + t_{v,\alpha} \cdot \frac{s_{(\bar{x}_i - \bar{x}_{c,i})}}{\bar{x}_i} \leq e \leq \frac{(\bar{x}_i - \bar{x}_{c,i})}{\bar{x}_i} + t_{v,\alpha} \cdot \frac{s_{(\bar{x}_i - \bar{x}_{c,i})}}{\bar{x}_i} \quad (1.44)$$

Il s'agit d'un intervalle de tolérance, en échelle relative, centré sur le biais relatif. L'amplitude de l'intervalle de tolérance est proportionnelle au coefficient de variation (Hubert *et al.*, 2007b). Pour une validation de l'exactitude sur tout le domaine de concentration, le profil d'exactitude doit s'inscrire dans un domaine d'erreur relative restreint, défini par les limites

d'acceptation  $[-\lambda_i ; +\lambda_i]$  (ils suggèrent de prendre en général,  $\lambda_i = 20 \%$ ). Le calcul de  $s(\bar{x}_i - \bar{x}_{c,i})$  peut être plus ou moins lourd.

L'exactitude d'une méthode est déterminée par une procédure spécifique avec de multiples échantillons et répétitions. En période de production, i.e. sur des échantillons de compositions inconnues, on utilise une courbe d'étalonnage unique obtenue éventuellement le jour même. La préparation d'échantillon est faite une seule fois. En fonction, du volume obtenu après extraction - purification - concentration il n'est pas toujours, non plus, envisageable de procéder à plusieurs injections dans l'appareil de mesure.

Pour obtenir une information sur l'exactitude réelle du résultat, il faut alors procéder par « propagation » de l'erreur. La valeur du résultat est obtenue par calcul en inversant l'équation d'étalonnage avec la réponse observée  $y^*$ .

$$x_c = \frac{y^* - b}{a} \quad (1.45)$$

Or à chacun de ces termes est associé un intervalle de confiance ou une variance. Il est alors possible d'en déduire la variance de la valeur calculée :

$$\text{var}(x_c) = \frac{1}{a^2} \left[ \text{var}(y^*) + \text{var}(b) + x_c^2 \cdot \text{var}(a) + 2 \cdot x_c \cdot \text{cov}(b, a) \right] \quad (1.46)$$

La variance de  $y$  et les variances et covariance des paramètres de l'équation ont été obtenues précédemment (1.31 et 1.38).

Dans le cas homoscédastique classique, la relation 1.46 devient :

$$\text{var}(x_c) = \frac{1}{a^2} \left[ \text{var}(y^*) + \frac{s_\epsilon^2}{n} + s_\epsilon^2 \cdot \left( \frac{(x_c - \bar{x})^2}{\sum x_i^2 - \sum x_i \cdot \bar{x}} \right) \right] \quad (1.47)$$

Qui avec  $m$  répétitions de la mesure de  $y^*$  donne :

$$\text{var}(x_c) = \frac{s_\epsilon^2}{a^2} \left[ \frac{1}{m} + \frac{1}{n} + \left( \frac{(x_c - \bar{x})^2}{\sum x_i^2 - \sum x_i \cdot \bar{x}} \right) \right] \quad (1.48)$$

### II.3.3. DETERMINATION DES LIMITES DE LA METHODE D'ANALYSE

Le traitement de la détection en chimie analytique repose sur la théorie statistique du test d'hypothèse (Currie, 1999a). Deux erreurs (« erreurs » dans le sens « décisions réellement erronées ») sont considérées :

- l'erreur du premier type,  $\alpha$ , (« Type I », faux positif) accepte l'hypothèse de la présence de l'analyte lorsque c'est faux (Figure I.3),
- l'erreur du deuxième type,  $\beta$ , (« Type II », faux négatif) accepte l'hypothèse de l'absence de l'analyte lorsque c'est faux.

Trois limites sont ensuite définies :

- La *Valeur Critique* ( $L_C$ ) de la variable chimique appropriée (signal net estimé, concentration ou quantité) : lorsqu'une valeur supérieure à  $L_C$  est observée, il est statistiquement probable que l'analyte soit présent, avec un risque  $\alpha$  de se tromper,
- la *Valeur (vraie) Détectable Minimale* ( $L_D$ ) de la variable chimique appropriée, ou Limite de Détection. Il n'y aura qu'un risque  $\beta$  qu'un échantillon prélevé dans cette population soit considéré comme un blanc, c'est-à-dire de fournir une valeur inférieure à  $L_C$ ,
- la *Valeur (vraie) Quantifiable Minimale* ( $L_Q$ ), ou Limite de Quantification.

Il est à signaler que ces définitions s'appliquent au signal net, c'est-à-dire corrigé du biais lié à la matrice. Le signal net estimé est  $S = y - b$

La figure I.3 donne une illustration graphique des relations entre les deux limites  $L_C$  et  $L_D$ . Les règles de probabilités sont les suivantes :

$$\begin{aligned} \Pr(L > L_C | \mu_L = 0) &\leq \alpha \\ \Pr(L \leq L_C | \mu_L = L_D) &= \beta \end{aligned} \tag{1.49}$$

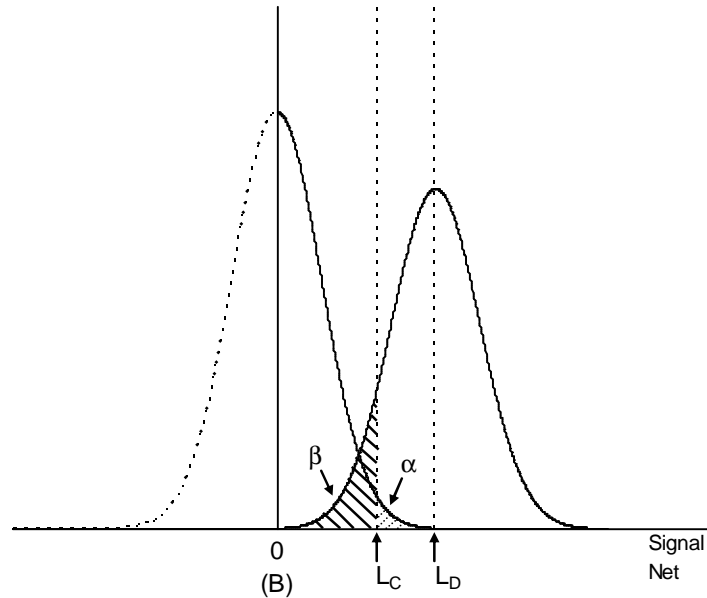


Figure I.3. Représentation de la valeur critique  $L_C$  et limite de détection  $L_D$  selon Currie (1999a)

Le tableau I.22 donne les principales relations permettant le calcul de  $L_C$  et  $L_D$  selon que la variance est connue ou non. Lorsque la variance est connue, les mesures sont supposées obéir à une loi normale et  $z$  est la valeur limite de cette loi pour un risque  $\alpha$  ou  $\beta$ . Lorsque la variance est estimée à partir des réponses, c'est la loi de Student qui s'applique et  $z$  est remplacé par  $t$  avec  $\nu$  le nombre de degrés de liberté (= nb. de mesures - nb. de paramètres).

Dans le cas homoscédastique, i.e.  $\sigma_0^2$  et  $\sigma_D^2$  sont deux estimations d'une même variance, si  $\alpha$  et  $\beta$  sont égaux,  $L_D$  devient est égal à  $2 L_C$ .

Selon Currie (1999a), si  $L_C$  est déterminé à l'aide de  $s_0$ , pour  $\nu$  degrés de liberté, alors  $(z_{1-\alpha} + z_{1-\beta})$  doit être remplacé par  $\delta_{\alpha,\beta,\nu}$ , le paramètre de non centralité de la distribution du  $t$  non-central. Currie insiste sur le fait que  $\sigma_0$  doit être utilisé et que si seul  $s_0$  est connu, alors  $L_D$  sera certaine au rapport  $(\sigma/s)$  près. Il propose dans ce cas de donner la valeur de  $L_D$  avec son intervalle de confiance. L'utilisation conjointe ici du  $t$  de Student et de  $\sigma_0$  semble contradictoire, pourtant l'auteur n'aborde pas cette particularité.

Tableau I.22. Expressions de la valeur critique ( $L_C$ ), et la limite de détection ( $L_D$ ) pour des variances connues et estimées

	Variances connues $\sigma_0^2, \sigma_D^2$	Variances estimées $s_0^2, s_D^2$	
Valeur critique	$L_C = z_{1-\alpha} \cdot \sigma_0$	$L_C = t_{1-\alpha, \nu} \cdot s_0$	(1.50)
Limite de détection	$L_D = L_C + z_{1-\beta} \cdot \sigma_D$	$L_D = L_C + t_{1-\beta, \nu} \cdot s_D$	(1.51)
Limite de détection, cas homoscédastique $\sigma_0^2$ et $\sigma_D^2$ homogènes	$L_D = (z_{1-\alpha} + z_{1-\beta}) \cdot \sigma_0$	$L_D = \delta_{\alpha, \beta, \nu} \cdot \sigma_0$ selon Currie (1999a) $L_D = (t_{1-\alpha, \nu} + t_{1-\beta, \nu}) \cdot s_0$ Voigtman (2008c)	(1.52)

Voigtman a cherché à vérifier empiriquement les formules donnant la valeur critique et la limite de détection de Currie et d'autres auteurs (Voigtman 2008c, b) à l'aide d'un programme informatique, qui a édité des dizaines de millions de droites d'étalonnage indépendantes et calculé pour chacune les valeur critique et limite de détection. Dans le cas de variances connues, il recommande d'utiliser les formules données par Currie, montrées exactes et de non biaisées. Par contre, il a soulevé le problème de compatibilité entre le t de Student et l'utilisation de  $\sigma_0$ , rencontrée dans le calcul de la limite de détection  $L_D$  au moyen de la formule de Currie. Au regard de ses résultats, il conclut que  $\delta_{\alpha, \beta, \nu}$  n'est pas nécessaire et redonne les formules de Currie pour les deux limites en fonction de la nature de la variance. Il précise, simplement, que lorsque  $\sigma_0$  est connu, les calculs se feront avec z et lorsque la variance sera estimée par  $s_0^2$ , z sera remplacé par le t de Student.

### Limite de quantification ( $L_Q$ )

Le calcul de cette limite est plus simple. La capacité à quantifier est en général exprimée en termes de valeur (vraie) du signal ou de l'analyte qui produit des valeurs estimées dont l'écart-type relatif (RSD) est égal à une valeur fixée ; de façon commune % RSD = 10 %. Ainsi,

$$L_Q = k_Q \cdot \sigma_Q \quad (1.53)$$

où  $L_Q$  est la limite de quantification,  $\sigma_Q$  l'écart-type à ce point, et  $k_Q$  le coefficient multiplicateur dont l'inverse est égal au RSD recherché.

$$L_Q = k_Q \cdot s_Q \quad (1.54)$$

Dans le cas homoscédastique,  $\sigma_Q$  peut être remplacé par  $\sigma_0$ . Et, lorsque la variance est estimée par  $s_0^2$ .



### Définition de l'AFNOR

Les limites de détection et de quantification définies par l'AFNOR (1997) concernent les réponses brutes  $y$  et sont calculées selon les relations suivantes

$$y_D = b + 3 \cdot s_b \quad (1.55)$$

$$y_Q = b + 10 \cdot s_b \quad (1.56)$$

Ils considèrent donc que la variance du blanc peut être estimée à partir de la variance de l'ordonnée à l'origine de la droite de calibration et prennent pour  $t_{1-\alpha, \nu}$  la valeur 3, qui semble être la valeur arrondie du  $t$  du Student correspondant à un risque de 5 % pour une courbe de d'étalonnage de 5 points (Vial et Jardy, 1999). Pour la limite de quantification, la valeur 10 est l'équivalent du RSD de 10 % donné par l'IUPAC.

### Définition de la SFSTP

Ils définissent les limites de quantification à partir de leurs intervalles de tolérances : la droite d'étalonnage n'est utilisée que dans le domaine de concentrations où ces intervalles restent dans des limites d'acceptation  $[-\lambda_i; +\lambda_i]$  (ils suggèrent de prendre en général,  $\lambda_i = 20\%$ ). Il peut leur arriver ainsi de définir non seulement une limite basse mais également une limite haute.

### Définition expérimentale : le rapport signal sur bruit (S/N)

Les limites de détection et de quantification sont déterminées sur le chromatogramme. L'amplitude du bruit  $h_{\max}$  est mesurée sur un intervalle équivalent à 20 fois la largeur du pic à mi-hauteur (Stavarakakis, 2007). Les limites sont calculées à l'aide des expressions suivantes :

$$L_D = 3h_{\max} \times \frac{C}{H} \quad (1.57)$$

$$L_Q = 10h_{\max} \times \frac{C}{H} \quad (1.58)$$

où  $C$  est la concentration et  $H$  la hauteur (intensité) du pic.

On note que  $L_D$  calculée à l'aide de 3 fois le rapport S/N sous estime d'environ 30 % la limite calculée par la méthode de Currie.

Passage du domaine du signal (S) à celui des concentrations (x)

Le raisonnement mené jusqu'ici (IUPAC et AFNOR) concernait le signal net  $S = y - b$ , il faut donc dans un premier temps déterminer  $s_0^2$  qui est l'estimation de la variance de S quand  $y = B$  (le blanc vrai) et donc S qui devrait en principe être proche de 0 (si l'estimation b de B est correcte)

$$s_{S=0}^2 = s_{y=B}^2 + s_b^2 \rightarrow s_{S=0}^2 = s_B^2 + s_b^2 \quad (1.59)$$

$s_B^2$  est la variance estimée du blanc vrai B, alors que  $s_b^2$  est la variance d'une estimation du blanc que constitue l'ordonnée à l'origine de la droite de régression.

Cette formule peut être adaptée à d'autres valeurs telles que la valeur critique, la limite de détection ou la réponse d'un échantillon inconnu :

$$s_{S=L_D}^2 = s_{y=L_D+b}^2 + s_b^2 \quad (1.60)$$

$$s_{S=L_Q}^2 = s_{y=L_Q+b}^2 + s_b^2$$

$$s_{S^*}^2 = s_{y=y^*}^2 + s_b^2$$

Lors du passage des limites exprimées en signal net à celles en concentration, il suffit d'appliquer la formule générale :

$$x_c = \frac{S}{a} \quad (1.61)$$

On retrouvera

$$s_{x_c}^2 = \frac{1}{a^2} \cdot s_S^2 + \frac{s^2}{a^4} \cdot s_a^2 - 2 \cdot \frac{S}{a^3} \cdot \text{cov}(S, a) \quad (1.62)$$

Sachant que  $\text{cov}(S, a)$  est égale à  $\text{cov}(y-b, a)$ , or comme  $\text{cov}(y, a) = 0$  (la réponse brute de l'appareil ne peut pas dépendre de la pente de la droite d'étalonnage),  $\text{cov}(S, a) = -\text{cov}(b, a)$ . Ce qui fait que (1.62) n'est autre qu'une forme synthétique de l'équation (1.46) dans le cas général ou (1.48) dans le cas homoscedastique.

## II.4. CONCLUSION

Bien que les perturbateurs endocriniens ne soient pas encore déclarés dangereux pour la santé de l'Homme, ces dernières années ont vu grandir considérablement le nombre de méthodes d'analyse de ces composés dans des matrices variées. C'est dans le désir d'anticiper une éventuelle réglementation sur la présence de ces molécules dans l'environnement que des méthodes sont développées et validées pour leur analyse.

Les perturbateurs endocriniens sont des molécules possédant des structures et propriétés physico-chimiques variées, montrant un caractère fortement hydrophobe à légèrement hydrophile. La chromatographie en phases liquide et gazeuse apporte une solution d'ores et déjà largement adoptée pour l'analyse de ces micropolluants. Dans le cadre de notre étude, nous avons sélectionné la chromatographie en phase liquide afin de nous affranchir d'une étape de dérivation des molécules cibles souvent nécessaire.

Ces micropolluants peuvent être présents dans l'environnement à des concentrations allant du  $\mu\text{g.L}^{-1}$  au  $\text{ng.L}^{-1}$ . L'utilisation de détecteurs spécifiques et sensibles est indispensable à leur quantification. Et, pour permettre d'atteindre des limites de quantification encore plus basses, les techniques de préparation de l'échantillon qui permettent la concentration des analytes deviennent des paramètres clés dans la mise au point des méthodes d'analyse. La spectrométrie de masse et la fluorescence semblent être des techniques de détection adaptées à ce type de composés et aux concentrations rencontrées. Et l'extraction sur phase solide permet non seulement d'extraire les analytes de leur matrice mais aussi de les purifier et de les concentrer. Ainsi, deux techniques ont été sélectionnées et seront mises en œuvre dans notre étude. Des méthodes d'analyse par chromatographie liquide à haute performance couplée à un détecteur à fluorescence (HPLC-Fluo), et par chromatographie liquide à ultra haute pression couplée à un spectromètre de masse en tandem (UHPLC-MS/MS), précédée par une étape d'extraction sur phase solide, seront mises en place pour la quantification des échantillons de l'ordre du  $\mu\text{g.L}^{-1}$  et du  $\text{ng.L}^{-1}$ , respectivement.

### III. ADSORPTION SUR CHARBON ACTIF

#### III.1. GENERALITES

##### III.1.1. PRINCIPE

Le principe de l'adsorption repose sur l'accumulation, à la surface ou à l'intérieur du matériau adsorbant, de solutés contenus dans le solvant. L'adsorption est majoritairement un phénomène de physisorption qui ne met en jeu que des forces intermoléculaires de faible énergie (approximativement entre 40 et 85 kJ.mol<sup>-1</sup>).

##### III.1.2. CARACTERISTIQUES DU CHARBON ACTIF

Le charbon actif est un matériau issu de la carbonisation de matières premières minérales ou végétales telles que la houille, le bois, la noix de coco, etc. Ce matériau, essentiellement composé d'atomes de carbone ordonnés en couches assez proche du graphite, est caractérisé par un haut degré de porosité et une surface spécifique importante. Ces caractéristiques donnent au charbon la propriété d'adsorber les molécules organiques hydrophobes. La porosité et l'aire spécifique sont développées à haute température au cours de la fabrication du charbon, lors des étapes de carbonisation et d'activation. Chaque fabricant appliquant ses propres conditions opératoires de carbonisation et d'activation, chaque charbon actif possède ses propres caractéristiques : une surface spécifique généralement comprise entre 500 et 1500 m<sup>2</sup>.g<sup>-1</sup> et une distribution poreuse variable (répartition, nombre et taille des pores). La porosité d'un charbon actif n'étant pas uniforme, la distribution poreuse détermine la fraction du volume poreux total qui sera accessible à un adsorbat d'une taille donnée.

Les pores du charbon actif sont classés selon leur taille en trois catégories : macropores, mésopores et micropores (Tableau I.23).

Tableau I.23. Répartition de la porosité du charbon actif (Dubinin, 1979)

Type de pores	Diamètre des pores (Å)	Volume poreux (cm <sup>3</sup> .g <sup>-1</sup> )	Aire massique (m <sup>2</sup> .g <sup>-1</sup> )
Macropores	>1000	0,20-0,80	0,5-2,0
Mésopores	100-1000	0,02	20-70
Micropores	20-100	0,10	400-1500

Les macropores, ouverts sur l'extérieur de la particule de charbon, participent peu au phénomène d'adsorption tout comme les mésopores qui facilitent le passage des adsorbats des macropores aux micropores. L'énergie d'adsorption est bien plus importante au sein de la partie finement poreuse : l'exclusion de taille contrôle l'accès des molécules vers les micropores où se localise la grande partie de l'aire spécifique d'adsorption (95 %).

### III.1.3.FACTEURS INFLUENÇANT L'ADSORPTION

La nature de l'adsorbant a une influence sur l'adsorption. La porosité et la surface spécifique du charbon, et donc l'origine du charbon et le type d'activation, sont à l'origine de différences dans les capacités d'adsorption (Le Cloirec, 1998). Il existe, à la surface des charbons, des groupements fonctionnels, dus à des irrégularités structurales et à la présence d'hétéroatomes (oxygène, azote, hydrogène, phosphore et soufre), possédant des propriétés acides, basiques ou neutres qui confèrent au charbon des propriétés plus ou moins hydrophiles. Ces groupements peuvent également avoir un rôle dans l'adsorption des composés organiques.

La nature de l'adsorbat a une influence sur l'adsorption. La quantité adsorbée augmente avec le poids moléculaire et l'hydrophobicité. Le pH de la solution et le pKa de l'espèce seront donc des paramètres à prendre en compte. En effet, un polluant donné sera plus hydrophobe, et donc plus adsorbé, sous forme moléculaire que sous forme ionique.

La nature de la matrice minérale, c'est-à-dire la présence de sels en solution, est susceptible de modifier les capacités d'adsorption. C'est surtout le cas des molécules ionisables (Randtke et Jepsen, 1982).

Enfin, la nature de la matrice organique peut modifier le comportement d'un soluté vis-à-vis de l'adsorbat et faire varier la capacité adsorption par différents phénomènes. Dans le cas où les pores du charbon sont trop petits pour accueillir les molécules volumineuses de la matière organique naturelle, celles-ci vont boucher les pores et empêcher leur accès aux micropolluants (Newcombe *et al.*, 2002). Lorsque que les pores sont suffisamment grands c'est le phénomène de compétition direct qui est prépondérant. Enfin, les substances humiques peuvent également former des complexes avec les micropolluants et ainsi former une espèce moins adsorbable par le charbon actif (Baup, 2000).

## III.2. MODELISATION DE L'EQUILIBRE D'ADSORPTION

L'étude des équilibres d'adsorption constitue une étape importante permettant de déterminer la capacité d'adsorption du matériau vis-à-vis d'un polluant. La connaissance des propriétés d'équilibre adsorbant-adsorbat est nécessaire pour la conception et le dimensionnement du procédé d'adsorption.

### III.2.1. ADSORPTION DE SOLUTES EN SOLUTION PURE

La représentation la plus utilisée est l'isotherme d'adsorption qui exprime, à température constante, la quantité de l'espèce adsorbée  $q_e$  par unité de masse de l'adsorbant en fonction de la concentration  $C_e$  à l'équilibre. Une présentation plus exhaustive des modèles d'adsorption est disponible dans de nombreux ouvrages (Le Cloirec, 1998; Masschelein, 1996; Abiven, 2002). Nous présenterons ici succinctement les modèles corps pur à deux et trois paramètres que nous avons sélectionnés pour notre étude.

#### III.2.1.1. Modèle de Freundlich (1906)

L'équation de Freundlich fut à l'origine établie empiriquement. Les hypothèses de ce modèle à deux paramètres sont que l'adsorption est de nature physique, qu'il n'y a pas d'association des molécules adsorbées, et que la surface de l'adsorbant est hétérogène, l'énergie d'interaction du soluté avec la structure interne des pores étant variable d'un site actif à l'autre.

De plus, la quantité de soluté adsorbée s'accroît à l'infini avec l'augmentation de la concentration ou de la pression. Son expression mathématique est décrite comme suit :

$$q_e = KC_e^{1/n} \quad (1.63)$$

$K$  et  $n$  (constantes) sont les paramètres de Freundlich.

Le paramètre  $n$  a été relié à la taille de la molécule d'adsorbat et plus précisément à son affinité pour l'adsorbant : plus les solutés présentent une taille importante, plus ils sont jugés hydrophobes, plus leur affinité est élevée avec la surface du charbon, et plus la valeur de  $n$  devient bien supérieure à l'unité. Le paramètre  $K$  traduit à la fois la taille de l'espace de l'adsorbant disponible pour l'adsorbat et l'affinité de l'adsorbat pour l'adsorbant (Abiven, 2002).

### III.2.1.2. Modèle de Langmuir (1915)

Contrairement au modèle de Freundlich, ce modèle à deux paramètres est basé sur un équilibre thermodynamique entre deux phénomènes : l'adsorption et la désorption, caractérisées par les constantes de vitesse  $k_1$  et  $k_2$ , respectivement. La relation suivante traduit cette double cinétique :

$$\frac{dq}{dt} = k_1 C (q_m - q) - k_2 q \quad (1.64)$$

A l'équilibre,  $\frac{dq}{dt} = 0$ , et nous obtenons la relation dite de Langmuir ( $C=C_e$ ,  $q=q_e$ ) :

$$q_e = q_m \frac{bC_e}{1 + bC_e} \quad (1.65)$$

$b$  représente la constante d'équilibre égale au rapport des constantes de vitesse d'adsorption ( $k_1$ ) et de désorption ( $k_2$ ) et  $q_m$  la capacité maximale d'adsorption.

### III.2.1.3. Modèle de Langmuir-Freundlich

Devant l'incapacité de certains modèles à deux paramètres à couvrir une large gamme de concentration, les modèles à trois paramètres se sont développés avec comme but la simulation plus juste du phénomène d'adsorption.

Le modèle à 3 paramètres utilisé dans l'étude est le modèle d'équilibre de Langmuir-Freundlich dont la formule compacte est proposée par Nieszporek et Rudzinski (2002) :

$$q_e = q_m \frac{[bC_e]^{\frac{1}{n}}}{1 + [bC_e]^{\frac{1}{n}}} \quad (1.66)$$

## III.2.2. ADSORPTION DE CORPS PURS EN MELANGE

Dans le cas de l'adsorption de plusieurs solutés en compétition, de nombreux modèles sont proposés dans la littérature. Ils dérivent le plus souvent des relations d'équilibre corps pur (Langmuir ou Freundlich) ou sont purement théoriques (ex. : IAST). L'application des différents

modèles de compétition existants nécessite de déterminer préalablement les paramètres d'équilibre ( $q_{m_i}$  et  $b_i$  ou  $K_i$  et  $n_i$ ) de chaque composé présent en solution. Trois approches sont communément citées dans la littérature :

- le modèle compétitif de Freundlich
- le modèle compétitif de Langmuir
- la Théorie de la Solution Adsorbée Idéale (IAST).

### III.2.2.1. Modèle compétitif de Langmuir

Ce modèle initialement développé par Butler et Ockrent (1930) et Markham et Benton (1931) pour des mélanges gazeux avant d'être étendu au cas des liquides, a pour équation :

$$q_{ei} = \frac{q_{mi} b_i C_{ei}}{1 + \sum_{j=1}^{n_c} b_j C_{ej}} \quad (1.67)$$

$j$  représente le ou les composé(s) en compétition avec le soluté  $i$ ,  $n_c$  est le nombre de constituants.

Cette isotherme descriptive de la compétition de corps purs est en mesure d'être appliquée uniquement à des mélanges dont les composés obéissent au modèle non compétitif de Langmuir. Plusieurs auteurs ont ainsi remarqué que l'isotherme compétitif de Langmuir ne décrit pas correctement l'adsorption de certains mélanges de composés phénoliques (Singer et Yen, 1980; Yen et Singer, 1984; Wang et Yang, 1997).

### III.2.2.2. Modèle compétitif de Freundlich

De nombreuses isothermes de composés purs pouvant être décrites avec le modèle de Freundlich, divers auteurs ont proposé des modifications de ce modèle afin de modéliser la compétition de mélanges à multiples composés.

Sheindorf *et al.* (1981) ont développé et utilisé avec succès un modèle décrivant l'adsorption de systèmes binaires et ternaires de phénol, de para-bromophénol et de benzènesulfonate de sodium. Ces auteurs ont présenté l'équation compétitive de Freundlich sous la forme suivante :



$$q_{ei} = K_i C_{ei} \left( \sum_{j=1}^{nc} a_{ij} C_{ej} \right)^{1/n_i} \quad (1.68)$$

$a_{ij}$  représente le coefficient de compétition entre les composés  $i$  et  $j$

Ce modèle descriptif est particulièrement adapté dans le cas de surfaces hétérogènes et de mélanges de molécules organiques présentant des caractéristiques physico-chimiques proches (De Kock et Van Deventer, 1997). Cependant, l'utilisation de cette relation nécessite d'effectuer de nombreuses expérimentations afin de déterminer les coefficients  $a_{ij}$  qui décrivent l'inhibition de l'adsorption du composé  $i$  par le composé  $j$ .

### III.2.2.3. Théorie de la Solution Adsorbée Idéale

La Théorie de la Solution Adsorbée Idéale (Ideal Adsorbed Solution Theory - IAST), a été initialement proposée par Myers et Prausnitz (1965) pour l'adsorption de mélanges gazeux et adaptée par la suite par Radke et Prausnitz (1972) aux systèmes aqueux.

Ce modèle a l'avantage d'être développé sur les bases thermodynamiques décrivant le comportement idéal des gaz et non sur un modèle d'équilibre en corps pur particulier. Par conséquent, il est possible d'y intégrer tous les modèles en corps purs exposés précédemment, à condition que ceux-ci décrivent parfaitement les données expérimentales. L'application de l'IAST nécessite uniquement la détermination des paramètres d'adsorption des solutés en solution pure : ainsi, comparativement aux modèles étendus de Langmuir et de Freundlich, des manipulations en compétition ne sont pas à effectuer en vue de l'obtention de coefficients additionnels.

A noter qu'il est important, lors de la compétition, d'exprimer les deux grandeurs,  $C_e$  et  $q_e$ , et les paramètres d'équilibre corps pur en mole étant donné qu'un site actif est supposé accueillir une molécule de soluté et non une unité de masse de soluté.

Cette approche repose sur deux hypothèses principales :

- la phase adsorbée se comporte comme une solution idéale, c'est-à-dire que la quantité de molécules du composé  $i$  adsorbables dans le solvant ( $C_{ei}$ ) doit être proportionnelle à la quantité adsorbable si le constituant  $i$  est seul dans les mêmes conditions ( $C_i^0$ )
- la surface disponible est invariante et équivalente pour tous les adsorbats, c'est-à-dire que tous les composés en solution rentrent en compétition pour les mêmes sites d'adsorption.

La diminution de la tension de surface du matériau en raison de l'adsorption de molécules est présentée comme la pression d'étalement du mélange de composés ( $\pi_m$ ). L'évaluation de  $\pi_m$ , non mesurable expérimentalement repose sur 6 équations de base.

$C_i^o$  est la concentration en solution pure produisant un  $\pi_i$  ayant la même valeur que le  $\pi_m$  du mélange, nous avons alors la relation suivante :

$$\pi_i(C_i^o) = \pi_m = \frac{RT}{A_p} \int_0^{C_i^o} \frac{q_i^o}{C_i^o} dC_i^o = \frac{RT}{A_p} \int_0^{q_i^o} \frac{d \ln C_i^o}{d \ln q_i^o} dq_i^o \quad (1.69)$$

$A_p$  représente l'aire volumique de la particule d'adsorbant

$C_i^o$  et  $q_i^o$ , concentrations en phase liquide et solide du composé i, sont en équilibre corps pur selon une loi d'isotherme donnée :

$$q_i^o = f(C_i^o) \quad (1.70)$$

La solution adsorbée se comporte comme une solution idéale. La concentration en phase liquide du composé i dans le mélange ( $C_{ei}$ ) est fonction de  $C_i^o(\pi_m)$  :

$$C_{ei} = x_i C_i^o(\pi_m) \quad (1.71)$$

La fraction molaire du composé i ( $x_i$ ) est définie de la façon suivante :

$$x_i = \frac{q_{ei}}{q_T} \quad (1.72)$$

La somme des concentrations en phase solide ( $q_T$ ) est :

$$q_T = \sum_{i=1}^{nc} q_{ei} \quad (1.73)$$

Le fait que la surface utilisable soit invariante et non sélective se traduit par l'équation suivante :

$$\frac{1}{q_T} = \sum_{i=1}^{nc} \frac{x_i}{q_i^o} \quad (1.74)$$

Dans le cas d'un système binaire (composé 1 et composé 2), des relations analytiques relatives au modèle de l'IAST, peuvent être obtenues à partir des bilans de matière :

$$\begin{aligned} \frac{m}{V}q_{e1} + C_{e1} - C_{0,1} &= 0 \\ \frac{m}{V}q_{e2} + C_{e2} - C_{0,2} &= 0 \end{aligned} \tag{1.75}$$

L'utilisation de l'isotherme de Freundlich pour développer les équations de l'IAST a été testée par de nombreux auteurs. S'agissant de l'étude de l'adsorption compétitive de composés phénoliques, l'IAST associée à la relation de Freundlich modélise d'une manière plus satisfaisante les équilibres en systèmes binaires et ternaires que le modèle compétitif de Langmuir (Yen et Singer, 1984; Baudu *et al.*, 1989; Wang et Yang, 1997).

### III.2.3. ADSORPTION DE SOLUTES EN EAU NATURELLE

La modélisation de la capacité d'adsorption d'un polluant organique donné en eau naturelle nécessite d'acquérir les paramètres d'équilibre des substances naturelles qui entrent en compétition avec le soluté pour les sites d'adsorption du charbon. Etant donné que la matière organique naturelle (MON) est un ensemble complexe de composés organiques difficilement caractérisables, il est nécessaire de parvenir à établir des modèles permettant d'évaluer son influence sur l'adsorption du polluant sans avoir besoin de connaître précisément sa composition. Plusieurs approches ont été proposées pour surmonter et traiter cette difficulté (Frick et Sontheimer, 1983; Ebie *et al.*, 2001), nous aborderons ici celle qui a retenu notre attention.

Crittenden *et al.* (1985) ont initié la démarche qui consiste à représenter la matrice organique naturelle par 1 ou 2 composés fictifs. Par la suite, Najm *et al.* (1991) ont simplifié cette approche du composé fictif : l'ensemble de la matrice organique est représenté par un unique composé, généralement dénommé EBC (Equivalent Background Compound). De ce fait, le phénomène compétitif étant ramené à une coadsorption de deux composés, le micropolluant et l'EBC.

Les caractéristiques du composé fictif unique, les paramètres d'équilibre et la concentration initiale  $C_{0,2}$ , ne pouvant être directement mesurées ni corrélées à aucun paramètre global comme le carbone organique total (COT), elles sont déterminées par l'ampleur de l'effet compétitif de la MON sur le composé organique étudié. Ainsi, une isotherme du micropolluant

est effectuée en eau pure, ce qui permet d'accéder aux paramètres d'équilibre et suivant l'importance de la compétition MON/soluté deux ou trois isothermes du micropolluant sont réalisées en eau naturelle.

La plupart des auteurs ont modélisé des isothermes d'adsorption de composés organiques en eau naturelle en faisant varier les concentrations initiales en polluant. Cette méthode a été appliquée avec succès par Najm *et al.* (1991) pour prédire l'adsorption du 2, 4, 6-trichlorophénol et du métazachlore dans différentes eaux naturelles, et par autres chercheurs pour simuler l'élimination de l'atrazine (Knappe *et al.*, 1993; Qi *et al.*, 1994; Prados *et al.*, 1994).

Un autre protocole expérimental comporte sur une ou plusieurs dilutions de la MON par l'eau pure (suivant l'importance de la compétition soluté/MON) et avec ou sans variation de la concentration initiale du polluant (Gicquel, 1996; Gicquel *et al.*, 1997; Lebeau *et al.*, 1999). Cette méthode permet d'imposer une contrainte supplémentaire sur  $C_{0,2}$  : il doit se comporter comme  $C_{0,1}$  et obéir à la loi de dilution, ce qui permet de se rapprocher plus précisément de sa véritable signification. Selon Gicquel (1996), diluer la MON permet de prédire avec davantage de certitude les capacités d'adsorption du charbon actif lors de l'extrapolation vers de faibles concentrations initiales en polluant, proches de celles détectées dans les eaux de surface.

### III.3. MODELISATION DE LA CINETIQUE D'ADSORPTION

#### III.3.1. MECANISME D'ADSORPTION

Le transfert et l'adsorption d'un soluté s'effectuent selon une succession d'étapes intervenant chacune, en principe dans la vitesse globale du processus.

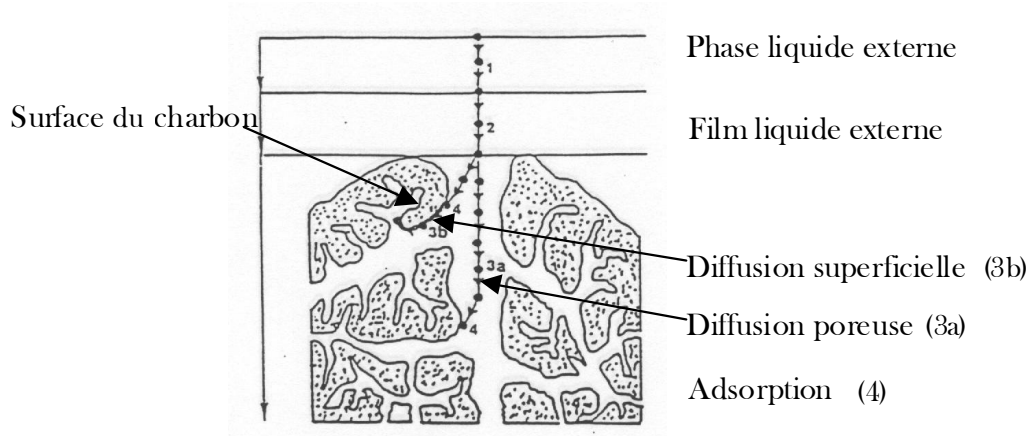


Figure I.4. Mécanisme d'adsorption d'un soluté sur un matériau poreux (Weber et Smith, 1987)

Le mécanisme d'adsorption (par physisorption) a été représenté et décrit par plusieurs auteurs. Weber et Smith (1987) proposent que le transfert d'adsorbat de la phase liquide vers un site d'adsorption s'effectue en quatre étapes cinétiques (Figure I.5) :

1)- Transfert de l'adsorbat du cœur de la phase liquide vers le film lié à l'adsorbant solide, par diffusion et/ou convection.

2)- Transfert diffusionnel de l'adsorbat à travers le film liquide vers la surface externe de l'adsorbant. Cette étape est caractérisée par le coefficient de transfert global externe  $k_f$ .

3)- Diffusion de l'adsorbat à l'intérieur de la particule d'adsorbant sous l'effet du gradient de concentration. Cette diffusion peut se faire :

3a)- *soit à l'état libre*, dans le liquide intraparticulaire. Cette migration est caractérisée par un coefficient de diffusion poreuse  $D_p$ .

3b)- *soit à l'état lié*, d'un site d'adsorption à un site adjacent. Le coefficient de diffusion superficielle  $D_s$  caractérise cette étape.

La différence entre les coefficients  $D_p$  et  $D_s$  n'est pas toujours faite par les auteurs, qui les regroupent parfois sous un seul coefficient de diffusion effectif  $D_{eff}$  (Noll *et al.*, 1992; Tien, 1994).

4)- Adsorption proprement dite.

Puisque ces quatre étapes s'effectuent en série, la vitesse d'adsorption est déterminée par l'étape la plus lente. La dernière étape est extrêmement rapide par rapport aux trois autres et sa contribution dans la cinétique du processus est donc négligeable. Dans les unités d'adsorption, en régime statique ou dynamique, les conditions hydrodynamiques du système sont généralement contrôlées pour favoriser un contact maximum entre la phase liquide et l'adsorbant. C'est pourquoi l'étape (1) du mécanisme d'adsorption est assez rapide et n'est pas non plus considérée comme l'étape limitante. De ce fait, pour la plupart des auteurs, la cinétique d'adsorption d'un soluté sur un grain de charbon actif est régie par le transfert de masse externe (étape 2) et la diffusion interne, superficielle et/ou poreuse (étape 3).

### *Le transfert de masse externe*

Le transfert d'un soluté à travers la couche limite autour du grain de charbon actif est caractérisé par un flux de matière, proportionnel au coefficient  $k$ , à la concentration au cœur du liquide et à celle à la surface du grain. Le coefficient de transfert de masse externe est inversement proportionnel à l'épaisseur du film liquide. Outre la diffusion moléculaire du soluté, il est fonction de ce qui pourra modifier l'épaisseur de ce film, tel le comportement hydraulique du système, la température ou certaines caractéristiques physiques du charbon. Pour un même couple polluant/charbon, le paramètre  $k$  sera donc différent d'un type de réacteur à l'autre (Dudamel, 2005).

### *La diffusion superficielle*

La diffusion superficielle traduit la migration des solutés d'un site d'adsorption à l'autre à l'état adsorbé. Contrairement au cas du transfert de masse externe, les conditions hydrodynamiques n'ont pas d'influence sur la diffusion superficielle du soluté. En revanche, elle est fonction des propriétés physiques du charbon et physico-chimiques du soluté, la température, et des études ont montré pour un soluté donné que la valeur du coefficient  $D_s$  diminue avec la concentration (Noll *et al.*, 1992).

On peut imaginer que si la diffusion superficielle traduit une migration des solutés à l'état adsorbé, l'affinité du soluté pour le charbon actif (que l'on peut évaluer à l'aide des paramètres d'adsorption) aura également une influence sur la valeur du coefficient  $D_s$ . Dudamel (2005) a montré qu'il est possible de corrélérer diffusion superficielle et équilibre d'adsorption. Il a utilisé plusieurs modèles dont celui proposé par Kapoor *et al.* (1989) qui considère que le coefficient  $D_s$  obéit à une sorte de loi d'Arrhenius, et comporte deux paramètres :  $D_{s,0}$  et une énergie  $E_s$ . Il a montré que  $D_{s,0}$  est inversement proportionnel au paramètre  $b_0$  du modèle de Langmuir, ce qui signifie que plus l'affinité d'un composé est forte ( $b_0$  élevé), plus il aura du mal à diffuser d'un site à l'autre ( $D_{s,0}$  faible). Il est également parvenu à un ajustement satisfaisant des paramètres  $D_s$  et  $K$  du modèle de Freundlich en utilisant l'équation empirique de (Miyabe et Suzuki, 1994).

La cinétique d'adsorption est régie par le transfert de masse et est donc fonction des trois coefficients :  $k_{f,i}$ ,  $D_{s,i}$ ,  $D_{p,i}$ . Il existe différentes approches pour modéliser les cinétiques expérimentales, soit il est procédé via l'outil informatique à la résolution simultanée des équations relatives à ces trois coefficients, soit afin de simplifier la démarche numérique un ou

deux mécanismes de diffusion est ou sont considéré(s) comme limitant(s). Quelle que soit l'approche retenue, les coefficients de diffusion sont supposés constants.

Les cinétiques à un paramètre limitant sont disponibles et détaillés dans la littérature (Baup, 2000; Abiven, 2002). Nous développerons ici uniquement celui de diffusion de surface homogène (HSDM).

### III.3.2. DIFFUSION EXTERNE ET DIFFUSION SUPERFICIELLE LIMITANTES (MODELE HSDM)

Certains auteurs ont mis évidence qu'en réacteur parfaitement agité discontinu (Knappe *et al.*, 1993; Greene *et al.*, 1994; Lebeau *et al.*, 1999) et continu (Traegner et Suidan, 1991; Greene *et al.*, 1994), la diffusion superficielle est le seul mécanisme limitant. Ce qui signifie que la cinétique d'adsorption serait uniquement régie par le transfert de masse externe et la diffusion superficielle.

Le modèle de diffusion de surface homogène ou HSDM (Homogeneous Surface Diffusion Model) développé initialement par Rosen (1952) est communément utilisé pour simuler la cinétique d'adsorption sur charbon actif de composés organiques en solution aqueuse pure ou en eau naturelle. La littérature montre que ce modèle cinétique a été utilisé pour divers réacteurs : réacteur agité discontinu (Traegner et Suidan, 1989a, b; Roy *et al.*, 1993; Ganguly et Goswami, 1996; Walker et Weatherley, 1999; McKay, 2001), lit fixe (Smith, 1991; Smith, 1994; Baup, 2000), lit fluidisé (Veeraraghavan *et al.*, 1989; Wang *et al.*, 1997; Wang et Chang, 1999).

La figure I.5 résume les principales hypothèses du modèle HSDM.

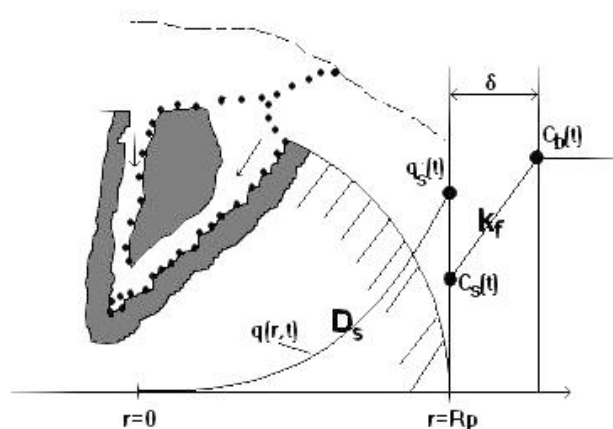


Figure I.5. Représentation schématique du modèle HSDM (Traegner et Suidan, 1989b)

Le modèle HSDM repose sur les hypothèses suivantes :

- Le transfert extragranulaire est assuré par le transfert de masse externe ( $k_f$ ).
- Le transfert intragranulaire est assuré par la diffusion superficielle ( $D_s$ ), elle est supposée indépendante de la charge de surface de l'adsorbant.
- L'équilibre entre la quantité adsorbée et la concentration liquide est obtenu seulement à l'interface solide/liquide avec continuité du flux entre la diffusion externe et la diffusion interne.
- La particule d'adsorbant est supposée homogène et sphérique.

En supposant que  $\frac{\partial C_i}{\partial t} \ll \frac{\partial q_i}{\partial t}$ , c'est-à-dire que l'accumulation du soluté dans le liquide situé dans les pores est inférieure à l'accumulation du soluté à la surface du pore, les équations du modèle HSDM sont donc les suivantes :

$$\varepsilon \rho \frac{\partial q_i}{\partial t} = \frac{1}{r^2} \frac{\partial}{\partial r} \left( D_{s,i} r^2 \frac{\partial q_i}{\partial r} \right) \quad (1.76)$$

$\varepsilon_p$  est l'indice de porosité, et  $r$  la distance au centre du grain de charbon.

Conditions limites :

$$\text{à } t = 0 \text{ et } 0 \leq r \leq R_p, q_i = 0 \quad \text{et} \quad \text{à } r = R_p, C_{s,i} = C_{0,i} = C_{b,i} \text{ et } q_i = 0$$

$$\text{à } t > 0 \text{ et } r = 0, \frac{\partial q_i}{\partial r} = 0 \quad \text{et} \quad \text{à } r = R_p, q_{s,i} \text{ en équilibre avec } C_{s,i}$$

A l'interface solide/liquide ( $r = R_p$ ):

$$k_{f,i} (C_{b,i} - C_{s,i}) = D_{s,i} \rho_p \frac{\partial q_i}{\partial r} \quad (1.77)$$

Le nombre de Biot se définit comme suit :

$$\text{Biot} = \frac{k_f R_p C_0}{D_s \rho_p q_0} \quad (1.78)$$

$q_0$  étant la capacité d'adsorption pour  $C_e = C_0$

Traegner et Suidan (1989a) distinguent trois domaines de valeur du nombre de Biot :



- si  $Biot \ll 1$ , le transfert de masse externe est le mécanisme dominant et le modèle HSDM n'est pas approprié pour la détermination du coefficient  $D_s$

- si  $Biot \gg 100$ , la diffusion superficielle est le mécanisme dominant et le coefficient  $k_f$  ne peut être déterminé par le modèle HSDM

- si  $1 \leq Biot \leq 100$ , les deux mécanismes de diffusion ont leur importance : les valeurs de  $D_s$  et de  $k_f$  obtenues sont significatives.

Une présentation plus exhaustive du charbon actif et de ses applications est consultable dans la littérature (Masschelein, 1996; Le Cloirec, 1998; Baup, 2000; Abiven, 2002).

### III.4. ADSORPTION SUR CHARBON ACTIF DES PERTURBATEURS

#### ENDOCRINIENS

##### III.4.1. INTRODUCTION

L'étude de l'adsorption des perturbateurs endocriniens sur charbon actif est récente. Les études réalisées ont cherché à déterminer les capacités d'adsorption et les constantes cinétiques de quelques hormones, plastifiants et agents de surface au moyen de modèles couramment employés pour la simulation des performances d'adsorption de composés organiques. Ces études ont été réalisées sur charbon actif usuels dans le traitement de l'eau potable sous forme de poudre (CAP) et de grain (CAG), en réacteur discontinu et sur colonne.

##### III.4.2. EQUILIBRES D'ADSORPTION

Les perturbateurs endocriniens sont des molécules majoritairement hydrophobes. Il est possible de prévoir une capacité d'adsorption importante des charbons actifs, notamment à l'aide de la valeur du  $\text{Log } K_{ow}$  du soluté (Westerhoff *et al.*, 2005). Néanmoins, face à ce nouveau type de pollution, l'évaluation des performances d'élimination des installations et des types de matériau actuellement utilisés est nécessaire. Ainsi, quelques auteurs ont étudié les capacités d'adsorption du charbon actif vis-à-vis des perturbateurs endocriniens pour une gamme de concentrations à l'équilibre allant du  $\text{mg.L}^{-1}$  au  $\text{ng.L}^{-1}$ .

Bautista-Toledo *et al.*, (2005) ont étudié la variation des capacités d'adsorption des trois charbons actif vis-à-vis du bisphénol A, en fonction du pH, de la proportion de matière minérale contenue sur le charbon, et de la force ionique de la solution. Les auteurs ont montré que l'adsorption du plastifiant est favorisée lorsque le pH de la solution est tel que la densité de charge à la surface du charbon soit nulle, c'est-à-dire voisin du point zéro de charge du charbon ( $\text{pH} \approx \text{pH}_{\text{pzc}}$ ), et tel que le bisphénol A soit sous forme moléculaire ( $\text{pH} < 8$ ). Et la force ionique de la solution augmenterait légèrement les capacités d'adsorption, en équilibrant les charges à la surface du charbon par un effet « d'écran ». Le tableau I.24 montre les capacités d'adsorption ( $q_m$  du modèle de Langmuir) du bisphénol A sur les trois charbons testés, en solution pure et lorsque qu'elle contient  $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$  de NaCl. Les charbons actifs S et A ont des surfaces spécifiques très proches, légèrement supérieures à celle du charbon M. Cependant, en eau pure, à  $\text{pH} = 7$ , la surface du charbon M est globalement neutre, ce qui favorise l'adsorption du plastifiant. L'ajout de NaCl n'a donc qu'une faible influence sur sa capacité d'adsorption. En revanche, la capacité d'adsorption des deux autres charbons, de nature plus basique, augmente en présence de sel.

Tableau I.24. Caractéristiques des charbons actifs et capacités d'adsorption du bisphénol A en fonction de la force ionique de la solution (Bautista-Toledo *et al.*, 2005)

Charbon	Caractéristiques des charbons			Capacité maximale d'adsorption $q_m$ ( $\text{mg.g}^{-1}$ )	
	Nature	Surface spécifique	$\text{pH}_{\text{pzc}}$	Eau pure	0,1 M NaCl
S	Houille	1225	12,1	129,6	238,1
M	Houille	1084	7,5	263,1	270,3
A	Amandes	1216	10,6	188,9	263,2

Les conditions expérimentales peuvent avoir une influence significative sur les capacités d'adsorption des perturbateurs endocriniens. Fukuhara *et al.*, (2006) ont évalué l'effet de la matière organique naturellement présente dans l'eau sur les performances d'adsorption des charbons de natures différentes vis-à-vis de deux hormones. Le modèle de Freundlich a permis aux auteurs de simuler de façon satisfaisante l'équilibre d'adsorption de l'estrone et de l'estradiol, dans l'eau ultra pure, une eau filtrée sur sable, une eau de rivière et un effluent de station d'épuration. Les auteurs ont utilisé un matériau neuf sauf dans le cas de l'eau filtrée sur sable, où des charbons âgés de 20 à 44 mois ont été utilisés.

Le tableau I.25 montre les résultats obtenus pour quelques charbons, sur tous les types d'eau étudiés. Dans l'eau ultra pure et pour les différents charbons utilisés, les capacités

d'adsorption, caractérisées par le paramètre  $K$  du modèle de Freundlich calculé en  $\text{mg.g}^{-1}$ , allaient de 25,6 à 73,5  $\text{mg.g}^{-1}$  pour l'estrone et de 21,3 à 67,6  $\text{mg.g}^{-1}$  pour l'estradiol. La capacité d'adsorption légèrement supérieure pour l'estrone a été expliquée par son caractère hydrophobe plus marqué. Pour les expérimentations effectuées dans les eaux naturelles, les auteurs ont constaté des diminutions significatives des valeurs de  $K$  en raison de l'effet de l'adsorption compétitive de la MON. Ils expliquent qu'il existe deux mécanismes de compétition, la compétition directe aux sites d'adsorption et le blocage des pores. Compte tenu de ces informations, il est évident que la taille de pores de charbon sera un paramètre déterminant dans les effets de compétition. Les résultats de Fukuhara *et al.*, (2006) l'ont observé : une capacité d'adsorption moindre -et donc une compétition plus importante- pour le charbon actif A-4, plus microporeux que le charbon B-2 a été observée (Tableau I.25).

Tableau I.25. Caractéristiques des charbons actifs et capacités d'adsorption de l'estrone et de l'estradiol en fonction du type d'eau (Fukuhara *et al.*, 2006)

Charbon	Nature	Surface spécifique	Constante $K$ du modèle de Freundlich ( $\text{mg.g}^{-1}$ )				
			Eau ultra pure (COT < $L_D$ )		Eau filtrée sable (COT = 1,1 $\text{mg.L}^{-1}$ )	Eau de rivière (COT = 7,2 $\text{mg.L}^{-1}$ )	Effluent de STEP (COT = 11 $\text{mg.L}^{-1}$ )
			Estrone	Estradiol	Estradiol	Estradiol	Estradiol
A-1	Coco	1038	25,6	21,3	-	-	-
A-2	Coco	1831	73,5	67,6	-	-	-
U-1	Houille	1052	-	-	3,5	-	-
U-2	Houille	1116	-	-	8,2	-	-
A-4	Coco	1208	-	-	-	0,00014	0,00028
B-2	Bois	1003	-	-	-	0,00020	0,001

COT : Carbone organique total

Pour les manipulations effectuées dans l'eau filtrée sable, les quantités adsorbées obtenues représentaient globalement environ 33 % de celles déterminées en eau ultra pure, pour des concentrations d'hormones à équilibre équivalentes. Lorsque les manipulations étaient réalisées dans l'eau de rivière et l'effluent de station d'épuration, les quantités adsorbées ne représentaient plus qu'environ 0,1 % des quantités adsorbées en corps purs. Les auteurs ont déduit des résultats que la matière organique était à l'origine de la baisse dans les capacités d'adsorption. Et les différences observées pour les différents types d'eau naturelle ont été corrélées aux différents ratios des concentrations du polluant et de la matière organique. Dans ce dernier cas, les concentrations à l'équilibre étaient de 1  $\text{ng.L}^{-1}$  et les capacités d'adsorption en eau ultra pure, qui ont servi de point de comparaison, ont été extrapolées à ce niveau de

concentration à partir des paramètres de Freundlich obtenus de manipulations effectuées à haute concentration. Il est possible qu'une surestimation des capacités d'adsorption en corps pur à basse concentration ait conduit les auteurs au calcul d'une forte réduction des capacités de d'adsorption (- 99,9 %). En effet, selon Yu *et al.*, (2008), l'extrapolation du modèle de Freundlich aux basses concentrations peut mener à une surestimation des capacités d'adsorption.

Les modèles de Freundlich et Langmuir sont généralement utilisés pour la simulation des équilibres d'adsorption corps purs des perturbateurs endocriniens. Les études citées précédemment ont simulé l'équilibre d'adsorption de plastifiants et d'hormones par les modèles de Langmuir (Bautista-Toledo *et al.*, 2005) et de Freundlich (Fukuhara *et al.*, 2006) de façon satisfaisante, sur les gammes de concentration étudiées. Et des résultats similaires ont été obtenus pour l'éthinylestradiol (Yoon *et al.*, 2003), et le nonylphénol (Yu *et al.*, 2008).

En eau naturelle, la Théorie de la Solution Adsorbée Idéale (IAST) associée au concept de l'« Equivalent Background Compound » (EBC) permet de simuler l'effet de compétition de la MON (Radke et Prausnitz, 1972; Najm *et al.*, 1991). Knappe *et al.*, (1998) ont utilisé cette approche pour décrire et prédire les isothermes d'adsorption de l'atrazine. L'association du modèle de Freundlich pour représenter le composé cible et l'EBC a permis aux auteurs de simuler de façon satisfaisante les équilibres compétitifs à des concentrations initiales de 175,6 et 36  $\mu\text{g.L}^{-1}$ , et de prédire l'isotherme d'adsorption pour une concentration initiale de 8,3  $\mu\text{g.L}^{-1}$ . Dans la même étude, les auteurs ont effectué des simplifications dans les équations de l'IAST en partant du principe que les composés cibles sont à des concentrations très inférieures à celle de la MON. Ces simplifications leur ont permis de prédire de façon satisfaisante l'abatement l'atrazine en fonction de la concentration du charbon. Yu *et al.*, (2008) ont également utilisé l'approche IAST associée au modèle de Freundlich pour la simulation de l'adsorption compétitive d'un perturbateur endocrinien et de produits pharmaceutiques. Ils ont effectué leurs manipulations à des concentrations initiales allant de 0,815 à 3  $\mu\text{g.L}^{-1}$  et ont constaté, comme Najm *et al.* (1991) et Knappe *et al.*, (1998), que le phénomène de compétition est d'autant plus fort que la concentration initiale du soluté est faible. Enfin, ils ont utilisé le modèle IAST simplifié pour déterminer les concentrations de charbon actif en poudre minimales nécessaires à un abatement de 90 % pour des concentrations initiales de perturbateurs endocriniens et produits pharmaceutiques de 50 et 500  $\text{ng.L}^{-1}$ . Les auteurs ont également associé le modèle de Freundlich dans l'approche IAST.

Les équilibres d'adsorption de certains perturbateurs endocriniens en solution pure ont été modélisés avec succès par les modèles Langmuir et de Freundlich. Cependant, les études qui ont utilisé ces modèles ont souvent travaillé sur des domaines restreints de concentration. Et l'extrapolation du modèle de Freundlich aux basses concentrations peut conduire à une surestimation des capacités d'adsorption pour de faibles valeurs de  $C_e$ . En eau naturelle, l'adsorption compétitive intervient selon deux mécanismes qui sont la compétition directe aux sites d'adsorption et le blocage des pores, et semble être d'autant plus important lorsque le soluté est dilué. L'approche IAST-ABC offre une simulation satisfaisante de l'adsorption compétitive de la MON sur le charbon actif, et a permis à quelques auteurs de prévoir les rendements d'élimination de micropolluants en fonction de la quantité de charbon. Néanmoins la simulation, qui permet de calibrer le modèle, et l'extrapolation ont souvent été effectuées à des niveaux de concentrations proches voire identiques.

### III.4.3. CINÉTIQUES D'ADSORPTION

Les manipulations d'équilibre isotherme permettent de déterminer les capacités d'adsorption d'un charbon actif vis-à-vis d'un polluant en vue de déterminer la quantité de charbon nécessaire au procédé de traitement. Les cinétiques d'adsorption donnent accès aux constantes cinétiques des couples polluant/charbon, et permettent de déterminer le temps de contact nécessaire pour atteindre l'équilibre. L'application de modèles cinétiques aux résultats des expérimentations permet de déterminer les constantes qui seront utilisées pour la simulation des performances du lit de charbon actif. Une autre approche est de mettre en place un filtre à charbon actif de taille réduite qui simule les performances du filtre réel dans un temps plus court.

Chang *et al.* (2004) ont étudié l'efficacité de plusieurs procédés de traitement d'eau potable vis-à-vis de l'estrone, dont l'adsorption sur charbon actif en poudre. La cinétique d'adsorption de l'estrone a été réalisée à l'aide d'un système combinant microfiltration et d'adsorption sur charbon actif en poudre. Pour l'étude cinétique, les auteurs précisent que ce système peut être considéré comme un réacteur discontinu si le phénomène d'adsorption sur la membrane filtrante est négligé. Les cinétiques d'adsorption ont été modélisées de deux façons : l'une ne considérait que la diffusion superficielle ( $D_s$ ) comme étape limitante et l'autre ajoutait le transfert de masse externe ( $k_f$ ) à la diffusion de surface comme mécanisme limitant. Le modèle de diffusion de surface homogène (HSDM), considérant les deux mécanismes de transfert de masse limitants, a été utilisé avec succès pour simuler les cinétiques d'adsorption de

l'estrone à des concentrations initiales allant de 11,8 ng.L<sup>-1</sup> à 50 ng.L<sup>-1</sup>. Les valeurs des paramètres  $k_f$  et  $D_s$  obtenues étaient de 0,6 cm.min<sup>-1</sup> et 1,59 x 10<sup>-9</sup> cm<sup>2</sup>.min<sup>-1</sup>, respectivement. La valeur du Nombre de Biot correspondant de 0,76 indique que le transfert de masse externe et la diffusion superficielle régissent tous les deux la cinétique d'adsorption de l'estrone sur le charbon actif étudié (Traegner et Suidan, 1989a).

Yu *et al.* (2009a, b) ont adopté une approche différente pour l'étude des cinétiques du nonylphénol, de composés pharmaceutiques dans le but de simuler plus justement leur adsorption sur lit fixe en conditions réelles (eau naturelle et faible concentration). Ils ont étudié l'évolution des paramètres d'équilibre et cinétiques de leurs solutés, au ng.L<sup>-1</sup>, en fonction de la quantité de MON pré-adsorbée sur le charbon actif et ont associé cette évolution à la prédiction des performances d'adsorption d'un réacteur lit fixe. Et ils ont utilisé un modèle qui prend en compte le transfert de masse externe, et les diffusions poreuse et superficielle (Pore and Surface Diffusion Model) pour déterminer les paramètres cinétiques d'adsorption, obtenus à l'aide d'un réacteur lit fixe de taille réduite. La prédiction des courbes de percée des composés étudiés était en accord avec les données expérimentales effectuées sur un filtre de taille pilote.

Une autre approche peut être d'utiliser une colonne de taille réduite et de la dimensionner de telle sorte qu'elle simule les performances d'un lit de charbon actif de taille réelle. Knappe *et al.*, (1997) ont tenté de prédire par ce moyen l'adsorption de l'atrazine, à une concentration initiale de 3,7 µg.L<sup>-1</sup>, sur des filtres de taille pilote. Les performances du lit de charbon neuf ont été prédites de manière satisfaisante par la colonne d'adsorption. Les auteurs ont également simulé avec succès l'adsorption de l'atrazine sur un filtre âgé de 5 mois. Pour les deux réacteurs, les conditions expérimentales -et notamment la concentration du composé cible- étaient similaires.

#### III.4.4. CONCLUSION

Quelques études ont été consacrées à l'adsorption des perturbateurs endocriniens en eau ultra pure et à des concentrations de l'ordre du mg.L<sup>-1</sup> (Bautista-Toledo *et al.*, 2005). Celles-ci représentent une première étape dans l'évaluation de l'efficacité du procédé vis-à-vis de cette nouvelle pollution. Cependant, les conditions dans lesquelles ces études ont été réalisées sont loin de la réalité, et des variations dans les capacités d'adsorption ont été observées, par d'autres auteurs, lorsque l'adsorption a lieu en eau naturelle et/ou à basse concentration (Knappe *et al.*, 1998; Campos *et al.*, 2000).

Les résultats des études d'adsorption à basse concentration et en eau naturelle seraient plus fiables pour le dimensionnement de filtres à charbon actif d'usine de production d'eau potable. Cependant, l'étude bibliographique a montré que l'obtention de ces résultats s'est faite au prix de techniques d'analyses coûteuses puisque la plupart des études recensées ici faisaient appel à des molécules cibles radiomarquées très onéreuses et à un dosage à l'aide d'un analyseur à scintillation liquide (Chang *et al.*, 2004; Fuerhacker *et al.*, 2001; Knappe *et al.*, 1998). L'utilisation de modèles adsorption courants a conduit à des simulations satisfaisantes aussi bien en eau ultra pure qu'en eau naturelle, pour les équilibres et cinétiques d'adsorption. Et des études ont montré qu'il est possible d'utiliser ces modèles pour effectuer des prédictions sur les performances du procédé (Knappe *et al.*, 1997, 1998; Yu *et al.*, 2008, 2009b). Ici, les manipulations servant à obtenir les paramètres nécessaires à la prédiction ont été réalisées à des concentrations faibles et proches des concentrations théoriques des prédictions.

#### IV. CONCLUSION ET OBJECTIFS DE L'ETUDE

Les perturbateurs endocriniens représentent une problématique récente. Bien que les premières preuves de la toxicité de ce nouveau type de micropolluant aient été montrées il y a plusieurs années, l'étendu du risque encouru par l'Homme est encore très peu connu. Des études toxicologiques en nombre croissant ont montré l'activité de ces composés et les effets qu'ils peuvent induire sur des cellules cibles ou des animaux, parfois à de très basses concentrations. Toutefois, la transposition des résultats *in vivo* à l'Homme n'est pas évidente et les études toxicologiques sur ce sujet sont très longues. De plus, le niveau d'exposition humaine à ces composés et la toxicité de leurs sous-produits, générés à la suite des procédés de traitement des eaux n'ont été mesurés que ponctuellement. Dans l'attente d'une conclusion sur le risque que représentent les perturbateurs endocriniens pour la santé publique, ces molécules sont considérées potentiellement dangereuses pour l'Homme.

Ces molécules sont présentes non seulement dans les tous les types de rejets d'eaux usées, parfois à de fortes concentrations, mais aussi dans les eaux naturelles puisque les stations d'épuration ne sont pas en mesure d'éliminer la totalité de la pollution et qu'une partie des rejets des eaux usées n'est pas collectée et atteint directement le milieu naturel. La Bretagne est une région où l'activité agricole est forte, et où les sources diffuses de pollution sont nombreuses. Elle est donc sensible à la problématique des perturbateurs endocriniens, et particulièrement parce que les captages pour la potabilisation proviennent majoritairement d'eaux de surface. Les

capacités d'élimination des procédés de production de l'eau potable vis-à-vis de ces molécules ont également été évaluées. La filtration sur charbon actif et les procédés de désinfection par oxydation sont les techniques les plus efficaces pour l'élimination des perturbateurs endocriniens. L'adsorption sur charbon actif est la dernière barrière conçue pour l'élimination des polluants organiques avant la distribution. L'ajout de chlore, qui est la dernière étape du traitement, a pour objectif premier de garantir la qualité bactériologique de l'eau distribuée. Afin de s'assurer que le charbon actif remplit correctement sa fonction vis-à-vis des perturbateurs endocriniens, il est nécessaire d'évaluer les performances de l'adsorption.

Le comportement du charbon actif étant fonction de nombreux paramètres (nature du charbon, des perturbateurs endocriniens, de la matière organique naturelle...), il peut s'avérer nécessaire de répéter cette évaluation. Les informations les plus précises sont obtenues en réalisant les expérimentations directement dans les conditions du traitement (lit fixe, polluant au  $\text{ng.L}^{-1}$ , présence de matière organique, etc.). Compte tenu également de la difficulté de l'analyse, ces expérimentations sont longues et coûteuses.

Des modèles d'adsorption ont été utilisés avec succès mais généralement dans le cadre de simulations (les paramètres des modèles obtenus dans les mêmes conditions que celles de la simulation). La capacité de ces modèles à être extrapolés n'a que rarement été étudiée. L'objectif de notre étude est de développer et d'évaluer un protocole d'expérimentations et de simulation permettant d'estimer les performances des charbons actifs dans les conditions réelles à partir d'expérimentations moins lourdes, à plus forte concentration. Des essais de cinétiques et d'équilibre en réacteur discontinu en eau ultra pure et eau naturelle doivent permettre de paramétrer les modèles dont la validité de l'extrapolation sera vérifiée par des expérimentations à basse concentration.

La démarche de notre étude comporte deux étapes. La première phase consistera en la mise en place de deux méthodes d'analyse, l'une au  $\mu\text{g.L}^{-1}$  et l'autre au  $\text{ng.L}^{-1}$ . Les échantillons les plus concentrés seront analysés par HPLC avec une détection par Fluorescence UV, et les échantillons les plus dilués seront extraits et concentrés par la technique SPE puis analysés par UPLC couplée à un spectromètre de masse en tandem (MS/MS). La deuxième phase sera consacrée au développement d'un protocole d'obtention des paramètres d'adsorption fondamentaux des modèles et à l'évaluation de la capacité d'extrapolation des modèles, d'abord pour les équilibres en corps pur puis les équilibres en compétition, puis en cinétiques. Cette étude sera entreprise avec des charbons actifs, des eaux et des perturbateurs endocriniens de natures différentes.





## **CHAPITRE II**

# **DEVELOPPEMENT, VALIDATION ET COMPARAISON DES METHODES D'ANALYSE**



## I. INTRODUCTION

Les perturbateurs endocriniens représentent un problème environnemental parce qu'ils sont détectés dans tous les compartiments de l'environnement aquatique, depuis les eaux usées à l'eau potable à des concentrations allant de quelques centaines de  $\mu\text{g.L}^{-1}$  à quelques  $\text{ng.L}^{-1}$ , et peuvent possiblement induire des effets néfastes sur l'Homme à ces mêmes concentrations. Des études ont montré les capacités d'élimination des procédés d'assainissement et de production d'eau potable vis-à-vis de ces composés, et ont mis en évidence que les fortes concentrations rencontrées dans les eaux usées étaient sensiblement diminuées au fil des traitements. Néanmoins, les quelques études effectuées sur l'eau potable montrent que les composés les plus persistants ou les plus abondants peuvent être retrouvés en fin de filière à de très faibles concentrations. Au regard du risque pour la santé publique, il est nécessaire d'effectuer plus d'études sur l'efficacité des traitements existants, afin de mieux connaître leurs capacités d'élimination. Compte tenu du fait que certains perturbateurs endocriniens sont actifs et peuvent être présents dans l'eau potable à des concentrations jusque 1 000 fois plus faibles que les restrictions déjà mises en place pour la pollution générée par les pesticides, il peut être envisagé d'adapter les procédés de traitement de l'eau potable à ces composés. Dans le cas de notre étude d'adsorption sur charbon actif, des manipulations dans des conditions proches de la réalité seront nécessaires afin de déterminer des capacités et des cinétiques d'adsorption les plus en accord avec la réalité environnementale.

L'objectif de ce travail de recherche est de mettre en place un outil qui permettrait, à partir de manipulations effectuées à haute concentration, l'extrapolation des équilibres et cinétiques d'adsorption sur charbon actif des perturbateurs endocriniens à basse concentration. L'outil d'extrapolation comporterait un protocole expérimental des manipulations à haute concentration, et les modèles et ajustements à effectuer pour une extrapolation à basse concentration la plus juste possible. Le but de l'étude est d'évaluer la capacité d'extrapolation de modèles d'adsorption connus afin de permettre l'étude de la nouvelle problématique que représentent les perturbateurs endocriniens sans effectuer les manipulations à basse concentration, contraignantes et coûteuses. La justesse de l'extrapolation par rapport aux résultats expérimentaux sera le paramètre évalué. Et, dans le but de comparer de manière rigoureuse les données extrapolées aux résultats expérimentaux, l'erreur effectuée sur l'analyse des très basses concentrations sera calculée.

La recherche bibliographique a montré que les traces de perturbateurs endocriniens dans l'eau naturelle étaient souvent analysées par chromatographie, en phase liquide ou gazeuse,

couplée à la spectrométrie de masse, et précédée d'une étape d'extraction le plus souvent sur phase solide (SPE). Pour les deux molécules représentatives sélectionnées, nous avons donc choisi d'en doser les très basses concentrations par chromatographie liquide à ultra haute pression (UHPLC) à l'aide du système Acquity Ultra Performance Liquid Chromatography de Waters couplé à un spectromètre de masse en tandem (UPLC-MS/MS). Pour les manipulations à haute concentration, nous avons choisi d'utiliser un appareil analytique plus commun, la chromatographie liquide haute performance couplée à un détecteur à fluorescence UV (HPLC-Fluo), de manière à garantir la faisabilité des analyses –et donc des manipulations– à haute concentration par le plus grand nombre dans le domaine du traitement de l'eau potable.

Ce chapitre est consacré à la mise en place et à l'évaluation de l'extraction SPE du bisphénol A et de l'éthinylestradiol dans l'eau naturelle, et de leur analyse par HPLC-Fluo et UPLC-MS/MS. Ces deux méthodes seront évaluées à l'aide d'un protocole de validation et comparées. Enfin, l'erreur de l'analyse sera évaluée par l'intervalle de confiance sur la valeur estimée pour les deux méthodes. Une dernière partie sera dédiée à l'étude des effets de matrice lors de l'analyse des deux molécules cibles par HPLC-Fluo et UPLC-MS/MS.

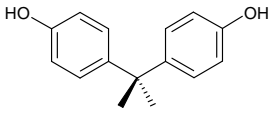
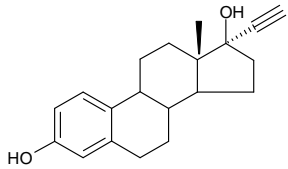
## **II. MATERIEL ET METHODES**

### **II.1. PERTURBATEURS ENDOCRINIENS SELECTIONNES**

#### **II.1.1. PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES**

Dans la liste prioritaire établie par la Communauté Européenne, nous avons choisi deux molécules : le Bisphénol A et l'Ethinylestradiol, (Tableau II.1). Selon la bibliographie, il s'agit de composés très ciblés car ils possèdent un fort potentiel estrogénique et sont très souvent retrouvés dans le milieu naturel. En effet, ces molécules sont souvent rencontrées dans les rejets industriels et domestiques, et les eaux potable et de surface. De plus, elles appartiennent à deux classes de perturbateurs endocriniens distinctes et ont des structures moléculaires différentes. Cette dernière caractéristique engendre des propriétés physico-chimiques différentes telles que la polarité ; la valeur du coefficient de partage octanol/eau ( $\text{Log } K_{ow}$ ) nous en donne une indication.

Tableau II.1 Propriétés physico-chimiques et potentiel estrogénique des perturbateurs endocriniens choisis

Molécule	Bisphénol A	Ethinylestradiol
Structure		
Masse molaire (g.mol <sup>-1</sup> )	228,29	296,40
Log K <sub>ow</sub>	3,3	4,1
Solubilité dans l'eau (mg.L <sup>-1</sup> )	110	11
Potentiel estrogénique relatif (par rapport à l'E2)	0,005 <sup>a</sup>	2 <sup>b</sup>
N° CAS	80-05-7	57-63-6

a : Coldham *et al.* (1997); b : Leroy et Manciot (2006)

## II.2. REACTIFS ET PRODUITS CHIMIQUES

Le bisphénol A (BPA) (99 %) et le 17  $\alpha$ -éthinyloestradiol (EE2) (98 %) ont été fournis par Sigma-Aldrich (St Louis, MO, Etats-Unis). L'étalon interne (EI) utilisé dans la méthode d'analyse par UPLC-MS/MS était un analogue structural, l'estrone (E1), fourni par Riedel-de Haën (Seelze, Germany). L'acétonitrile de qualité HPLC fourni par Fischer Scientific-Bioblock (Illkirch, France) a été utilisé pour toutes les préparations des solutions étalons et pour l'extraction sur phase solide. L'eau ultra pure (EUP) a été produite par un appareil Elga Option-Q DV 25 (Antony, France).

Une solution mère de l'estrone est préparée dans l'acétonitrile à une concentration de 100 mg.L<sup>-1</sup> et conservée à 4°C. Pour la préparation des gammes de solutions étalons, une solution mère de chaque analyte est préparée à 500 mg.L<sup>-1</sup> dans l'acétonitrile puis est également conservée à 4°C. Un mélange des deux analytes à 10 mg.L<sup>-1</sup> est ensuite préparé dans l'acétonitrile. Une solution mélange intermédiaire à 2 mg.L<sup>-1</sup> est préparée à partir de la solution à 10 mg.L<sup>-1</sup> par dilution avec une solution mélange eau ultra pure/acétonitrile (60/40, v/v) dopée avec 100  $\mu$ g.L<sup>-1</sup> d'estrone. Cette solution est utilisée pour la préparation des solutions de la gamme non extraite, c'est-à-dire de 5 à 200  $\mu$ g.L<sup>-1</sup>. Chaque solution étalon de la gamme non extraite est ensuite utilisée pour préparer par dilution chaque solution étalon de la gamme extraite, de 5 à 200 ng.L<sup>-1</sup>.

## II.3. OUTILS ANALYTIQUES

Le développement de la méthode d'analyse des traces des perturbateurs endocriniens s'effectue en trois étapes, dans le sens inverse de l'analyse d'un échantillon inconnu. Tout d'abord, les paramètres de la détection tels que les transitions suivies et les potentiels appliqués pour chaque molécule sont optimisés. Ensuite, les conditions de la séparation chromatographique, telles que le solvant d'élution en mode isocratique ou gradient, sont déterminées. Enfin, l'étape d'extraction sur phase solide est développée.

### II.3.1. L'EXTRACTION SUR PHASE SOLIDE (SPE)

L'extraction des analytes est réalisée à l'aide d'un dispositif d'extraction Waters (Figure II.1). Ce système est constitué de 16 supports de cartouche en parallèle avec une aspiration sous vide réalisée par une trompe à vide.

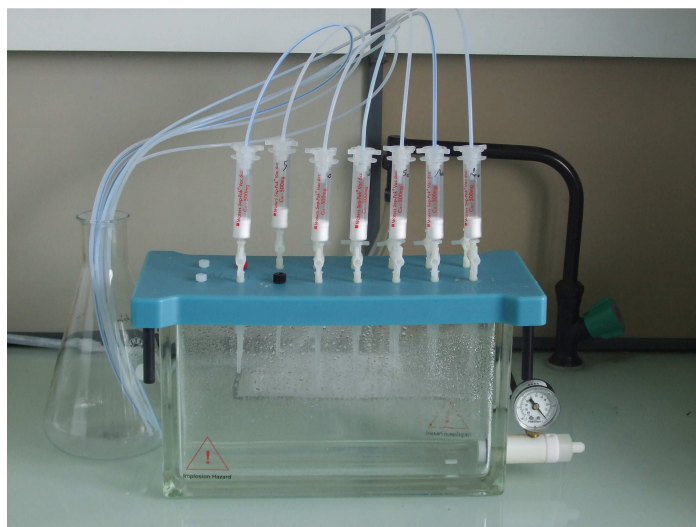


Figure II.1 Dispositif d'extraction Waters

Les cartouches testées pour l'extraction des trois composés sont les cartouches polymériques HLB Oasis Waters (200 mg, 6 cc) et Strata X Phenomenex (Torrance, CA, USA) et une cartouche de silice Sep Pak C18 Waters (Milford, MA, USA) (500 mg, 6 cc). L'extraction des solutés s'effectue en quatre étapes principales : le conditionnement, le chargement, le rinçage et l'élution de la cartouche.

Les extractions réalisées sur ces trois cartouches ont été effectuées avec trois protocoles différents, faisant appel à différents solvants, pour les étapes de conditionnement, rinçage et

élution de la cartouche. La figure II.2 présente le protocole d'extraction sur la phase Sep Pak C18. Les protocoles d'extraction sur les deux phases sont présentés en Annexe II.1.

Les éluats ont été évaporés à sec à l'aide d'un système d'évaporation N-Evap de Organomation (Berlin, MA, USA). Après reprise dans le solvant d'injection, les échantillons extraits sont analysés par UPLC-MS/MS, puis par HPLC-Fluo dans le cas de l'étude comparative des performances des deux appareils.

L'étape d'extraction sur phase solide permet d'atteindre un facteur de concentration de 2500.

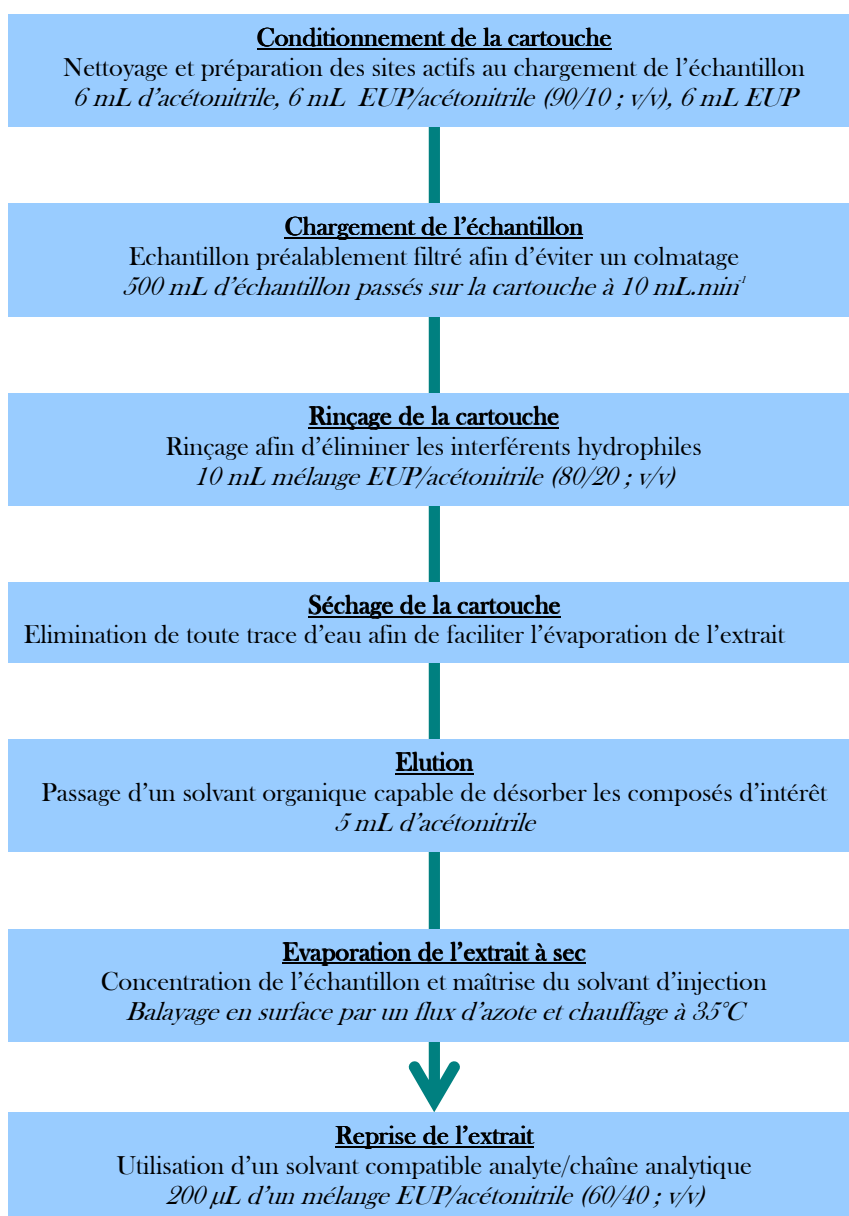


Figure II.2 Déroulement des étapes de l'extraction sur phase solide pour la cartouche Sep-Pak C18 de Waters (adapté de Braunrath et Cichna, 2005)



### II.3.2. L'ANALYSE PAR UHPLC-MS/MS

Les échantillons à basse concentration ont été analysés par UHPLC-MS/MS sur un système Waters comprenant les éléments suivants (Figure II.3) :

- une pompe binaire Acquity UPLC capable de délivrer de faibles débits et de résister aux très hautes pressions,
- un passeur d'échantillons Acquity UPLC réglé à une température de 5°C et un volume d'injection de 5 µL,
- un four pour colonnes chromatographiques Acquity UPLC réglé à une température de 45°C et équipé d'une colonne C18 BEH Acquity UPLC de Waters (100 mm × 2,1 mm i.d., 1,7 µm).



Figure II.3 Système Acquity UPLC-MS/MS de Waters

- un spectromètre de masse à triple-quadripôle Quattro Premier de Micromass (Manchester, UK) équipé d'une source d'ionisation electrospray. Les débits de gaz de cône, de nébulisation et de désolvatation étaient de 75 L.h<sup>-1</sup>, 75 L.h<sup>-1</sup> et 750 L.h<sup>-1</sup>, respectivement. Les températures de la source et du gaz de désolvatation étaient fixées à 120°C et 350°C, respectivement. L'azote utilisé pour les gaz de cône, de nébulisation et de désolvatation était fourni par un générateur d'azote haute pureté, le Peak Scientific NM30LA (Peak Scientific, Inchinann, Royaume Uni). L'argon de haute pureté (99,99 %) a été fourni par Air Liquid (Paris, France). Le débit du gaz de collision était fixé à 0,25 mL.min<sup>-1</sup> pour une pression dans la cellule de collision de 4,2×10<sup>-3</sup> mbar. La tension du capillaire était fixée à 2 000 V. La tension de cône, les transitions choisies pour la détection en mode Multiple Reaction Monitoring (MRM) et l'énergie de collision ont été

optimisées pour chaque molécule. Les molécules cibles et l'étalon interne étaient détectés en mode d'ionisation négatif. Le contrôle du chromatographe et du spectromètre de masse était effectué par le logiciel Micromass MassLynx 4.1 et les données acquises étaient traitées par le programme QuanLynx.

### II.3.3. L'ANALYSE PAR HPLC-FLUO

Les échantillons ont également été analysés par HPLC-Fluo sur le système Waters suivant (Figure II.4) :

- un module de séparation Alliance 2695 de Waters comprenant une pompe quaternaire,



Figure II.4 Système Alliance 2695 et détecteur à fluorescence UV 474 de Waters

- un passeur d'échantillons avec le volume d'injection fixé à 50  $\mu\text{L}$

- une colonne analytique XBridge C18 de Waters (250 mm x 4,6 mm i.d., 5  $\mu\text{m}$ ) précédée d'une pré-colonne (20 mm x 4,6 mm i.d., 5  $\mu\text{m}$ ) contenant le même type de phase stationnaire,

- un détecteur à fluorescence UV Waters 474 réglé aux longueurs d'onde d'excitation et d'émission de 280 nm et 310 nm, respectivement. Les conditions de détection sont celles rapportées par Yoon *et al.* (2003).

Le contrôle du système Alliance 2695 et le traitement des données acquises ont été effectués à l'aide du logiciel Millennium<sup>32</sup>.

## II.4. CARACTERISTIQUES DES MATRICES DE TRAVAIL

### II.4.1. EAU ULTRA PURE

La première étape des manipulations d'adsorption sur charbon actif a été effectuée dans l'eau ultra pure afin d'obtenir les paramètres d'adsorption en solution pure des différents couples charbon/polluant. Ces manipulations ont été réalisées à haute et basse concentrations, une méthode d'analyse a donc été mise en place pour ce type de matrice sur les deux appareils d'analyse. L'eau ultra pure a été produite par un appareil Elga Option-Q DV 25. L'eau du réseau est traitée au moyen de quatre technologies de purification : l'osmose inverse, l'adsorption, l'échange d'ions et la photo-oxydation. Cette eau pure présente les caractéristiques suivantes : résistivité = 18,2 M $\Omega$ .cm, COT < 50  $\mu$ g C.L<sup>-1</sup> (limite de quantification du COTmètre).

### II.4.2. EAU NATURELLE

L'eau naturelle a été prélevée dans un puits situé à Rennes. Cette eau a subi une décontamination bactérienne importante par filtration sur membrane acétate de cellulose de 0,2  $\mu$ m et était conservée à 4°C avant toute utilisation.

Cette eau présentait les caractéristiques suivantes :

pH = 7,0 - 7,8 ; Absorbance UV<sub>254</sub> = 0,039 - 0,057 UA ; COT = 2,0 - 2,5 mgC.L<sup>-1</sup>.

### II.4.3. EFFETS DE MATRICE

Lorsque la matrice de l'échantillon est complexe, la quantification des analytes peut être biaisée par une diminution ou une augmentation de l'intensité du signal du détecteur. Les éléments interférents modifient les conditions de la détection de la molécule cible et peuvent modifier la réponse de celle-ci.

#### II.4.3.1. Détection par fluorescence UV

Le Quenching est la diminution de l'intensité de la fluorescence qui survient lors de l'excitation de la molécule ou de l'émission de rayonnements UV (Lakowicz, 2006). On distingue deux types de quenching :

- le quenching dynamique : le fluorophore à l'état excité est désactivé en subissant un contact avec une autre molécule (« quencheur »), ou deux fluorophores se combinent pour former un excimère qui a un spectre d'excitation altéré.

- le quenching statique : le fluorophore établit à l'état fondamental un complexe stable et non fluorescent avec une deuxième molécule.

#### II.4.3.2. Détection par spectrométrie de masse

Les diminutions ou augmentations d'intensité que l'on rencontre en détection par spectrométrie de masse sont dues aux effets de matrice qui surviennent lors de l'ionisation des analytes (Cappiello *et al.*, 2008). Ce phénomène très complexe apparaît majoritairement pour l'ionisation par electrospray (King *et al.*, 2000). Des études tentant d'expliquer l'origine de la suppression d'ions rapportent que le phénomène est causé par la présence d'espèces non volatiles dans la phase liquide (King *et al.*, 2000).

#### II.4.3.3. Méthodes de compensation des effets de matrice

Deux modes d'étalonnage sont utilisés pour compenser les effets de matrice et permettre la quantification d'un échantillon inconnu en analyse environnementale (Cuadros-Rodriguez *et al.*, 2007). La méthode des ajouts dosés consiste en la préparation de solutions à partir de la solution inconnue et de l'ajout de quantités connues de l'analyte à doser. L'analyse de toutes les solutions permet de réaliser une droite d'étalonnage prenant en compte les effets de matrice, et de déduire la concentration de l'inconnu (Figure II.5).

Ici, on présume que l'effet de matrice sur la quantité d'analyte ajoutée est le même que celui sur l'analyte dans l'échantillon initial. En d'autres termes, on fait l'hypothèse que l'effet de matrice ne varie pas avec la concentration de l'analyte.

L'étalonnage interne consiste en l'ajout en quantité connue d'un composé non présent dans l'échantillon et préférablement de structure et propriétés physico-chimiques proches de celles de l'analyte, de telle sorte qu'il subisse des effets de matrice proches de ceux de l'inconnu. L'intensité du signal de l'inconnu sera pondérée par le ratio concentration de l'étalon interne/intensité du signal de l'étalon interne.

La méthode des ajouts dosés impose de réaliser plusieurs solutions par échantillon inconnu. Dans notre cas, l'analyse d'échantillons correspondant aux manipulations dans l'eau naturelle et à

basse concentration nécessiterait plusieurs extractions, ce qui alourdirait la méthode d'analyse. Nous avons donc choisi la méthode de l'étalonnage interne pour quantifier nos échantillons. Une seconde partie de ce chapitre sera consacrée à l'étude des effets de matrice afin de vérifier si cette méthode permet une compensation suffisante de l'éventuelle modification de l'intensité du signal.

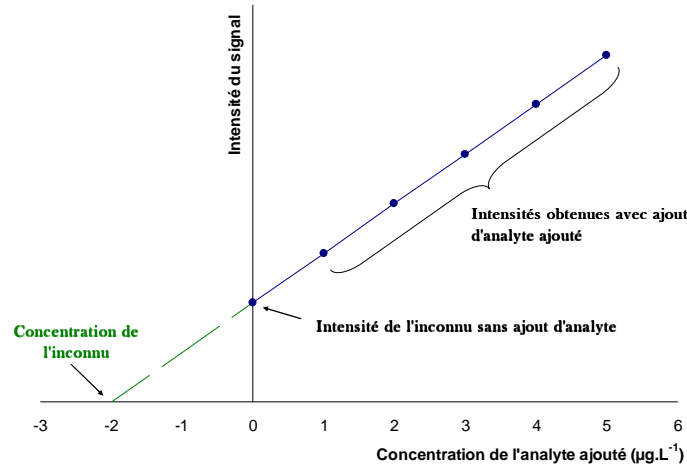


Figure II.5 Détermination de la concentration d'un échantillon inconnu par la méthode des ajouts dosés

## II.5. VALIDATION, OUTILS STATISTIQUES ET ETUDE DES EFFETS DE MATRICE

### II.5.1. VALIDATION DES METHODES D'ANALYSE

Pour la validation des méthodes d'analyse, une gamme extraite (au ng.L<sup>-1</sup>) est préparée par dilution de la gamme non extraite (au µg.L<sup>-1</sup>), avec un facteur de dilution FD de 1000. La gamme extraite est ensuite concentrée sur phase solide (SPE) (concentrée jusqu'au µg.L<sup>-1</sup>), avec un facteur de concentration FC de 2500. Enfin, le facteur D, le ratio FC/FD, est le coefficient multiplicateur qui donne la concentration des solutions de la gamme extraite concentrée en fonction de la concentration des solutions de la gamme non extraite. La figure II.6 illustre la préparation des deux gammes.

Les solutions étalons des gammes non extraites et extraites, à raison de 5 solutions par gamme, ont été injectées dans les deux appareils d'analyse lors de la validation. Deux types de solutions étalons extraites ont été analysés, préparées dans l'eau ultra pure et l'eau naturelle.

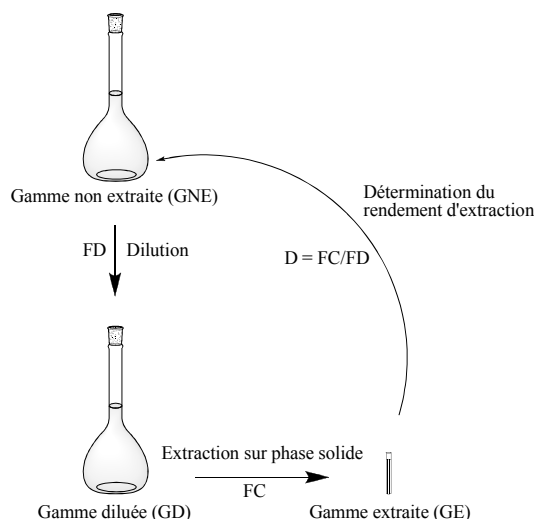


Figure II.6 Préparation des gammes non extraite et extraite

La méthode de l'étalonnage interne a été utilisée pour la quantification des analytes.

Pour la méthode UPLC-MS/MS, deux types de droites d'étalonnage ont été réalisés en représentant l'aire du pic obtenu ( $A$ ), désignée en tant que signal, et la réponse ( $R$ ) (Equation 2.1) en fonction de la concentration introduite. La réponse est l'aire du pic de l'analyte multipliée par le ratio de la concentration (théorique) de l'EI et de l'aire du pic de l'EI.

$$R = \frac{A \times C_{EI}}{A_{EI}} \quad (2.1)$$

Les droites d'étalonnage représentant la réponse en fonction de la concentration ont été utilisées pour la validation. En raison de l'hétéroscédasticité des mesures en UPLC-MS/MS, la pente, l'ordonnée à l'origine, et le coefficient de corrélation ont été calculés par régression linéaire pondérée à l'aide du logiciel Excel basée sur l'utilisation des relations 1.29 et 1.39.

Pour la méthode HPLC-Fluo, les droites d'étalonnage en 5 réplicats ont été réalisées en représentant l'aire du pic obtenu en fonction de la concentration introduite. La pente, l'ordonnée à l'origine, et le coefficient de corrélation ont été calculés par régression linéaire (classique) à l'aide du logiciel Excel basée sur l'utilisation des relations 1.11 et 1.14 dont les résultats peuvent être comparés à ceux de la fonction prédéfinie « DROITE REG » du même logiciel.

Les deux méthodes d'analyse ont été évaluées à l'aide du protocole de validation de l'AFNOR (XP T 90-210). Le rendement d'extraction a été déterminé par le calcul de la moyenne arithmétique des rapports des aires de pics des étalons extraits et non extraits (Figure II.6).

## II.5.2. ETUDE DES EFFETS DE MATRICE

Pour les deux méthodes, les effets de matrice ont été évalués en calculant et comparant les rendements des analytes pour les gammes extraites préparées dans l'eau ultra pure et l'eau naturelle. La méthode suivie a été inspirée de la littérature (Matuszewski *et al.*, 2003; Van De Steene et Lambert, 2008).

## III. DEVELOPPEMENT DES METHODES D'ANALYSE

### III.1. INTRODUCTION

Le développement d'une méthode d'analyse de traces des deux perturbateurs endocriniens choisis est essentiel à ce travail de recherche puisque qu'une partie des manipulations d'adsorption sur charbon actif sera effectuée à de très faibles concentrations. C'est une pièce indispensable à notre projet qui nous permettra d'étudier et d'évaluer la faisabilité de l'extrapolation des performances d'adsorption. Nous avons donc développé un outil adapté à nos conditions de manipulation, c'est-à-dire une méthode d'analyse des deux composés cibles dans une eau naturelle relativement stable.

L'obtention des résultats de l'analyse représente une première étape dans notre étude. La deuxième étape sera d'utiliser les résultats haute concentration afin de modéliser le comportement d'adsorption sur charbon actif, et de vérifier l'erreur de l'extrapolation du modèle ainsi calibré par l'analyse des échantillons des manipulations à basse concentration. Ainsi, l'évaluation de l'erreur des résultats donnés par les méthodes d'analyse développées est indispensable à haute comme à basse concentration. L'erreur à haute concentration nous indique le degré de confiance que l'on accorde aux points expérimentaux lors de la modélisation. Et, l'erreur à basse concentration permet une comparaison de l'extrapolation.

Cette première partie de résultats sera donc consacrée à la mise en place de la méthode d'analyse des traces des perturbateurs endocriniens par SPE-UPLC-MS/MS. Les échantillons extraits seront également analysés par HPLC-Fluo, dans le but d'effectuer une comparaison des deux méthodes. Ces méthodes seront évaluées selon un protocole de validation puis comparées. Enfin, les limites de détection et de quantification, et les intervalles de confiance sur la valeur estimée des deux méthodes seront calculés et comparés.

### III.2. DETECTION PAR SPECTROMETRIE DE MASSE EN TANDEM

Les transitions MRM et les valeurs de tension de cône et d'énergie de collision pour chaque molécule ont été fixées pour la plus forte intensité du signal, dans le mode d'ionisation électrospray négatif, en infusant dans la phase mobile les solutions correspondantes à l'aide d'un pousse-seringue.

Tableau II.2 Masse molaire, temps de rétention, tension de cône, transition et énergie de collision des molécules étudiées

Molécule	MM (g.mol <sup>-1</sup> )	TR (min)	Tension de cône (V)	Transition (m/z)	Energie de collision (eV)
Ethinylestradiol	296,4	1,87	54	295,2 > 144,9	40
Bisphénol A	228,3	1,43	40	227,1 > 212,1	19
Estrone	270,4	2,02	53	269,1 > 145,0	35

MM : Masse molaire, TR : Temps de rétention

Les paramètres correspondants sont donnés dans le tableau II.2. Les temps de balayage (dwell time) ont été définis dans le but d'obtenir 20 points de mesure d'intensité par pic pour chaque analyte.

### III.3. OPTIMISATION DES CONDITIONS CHROMATOGRAPHIQUES

#### III.3.1. CHROMATOGRAPHIE LIQUIDE HAUTE PERFORMANCE

La recherche bibliographique a montré que l'analyse des perturbateurs endocriniens est souvent effectuée dans des conditions et avec des phases stationnaires classiques. Le bisphénol A et l'éthinylestradiol sont deux molécules possédant des valeurs de LogK<sub>ow</sub> suffisamment différentes pour prévoir une bonne séparation sur colonne apolaire. Le méthanol et l'acétonitrile ont été testés pour séparer les deux molécules. De meilleurs résultats pour une consommation de solvant moindre nous ont conduits au choix de l'acétonitrile.

Pour les échantillons des manipulations et les solutions étalons à haute concentration, le mode d'élution isocratique suffit à l'analyse des molécules cibles. La proportion du modificateur organique a été optimisée de telle sorte que le bisphénol A, l'éthinylestradiol et l'estrone soient séparés. En revanche, pour tous les échantillons extraits, un gradient d'élution a été mis en place



afin d'éliminer de la colonne d'éventuels composés très apolaires après l'élution des molécules cibles.

Ainsi, l'élution en modes isocratique et gradient a été effectuée avec de l'acétonitrile en tant que solvant A et de l'acide phosphorique à 10 mM dans l'eau ultra pure en tant que solvant B, à un débit de 1 mL.min<sup>-1</sup>. L'utilisation de l'acide phosphorique a été inspirée de la bibliographie. Pour tous les échantillons non extraits, l'analyse d'une durée de 20 min en mode isocratique réalisée avec 40 % de solvant A et 60 % de solvant B a permis la séparation du bisphénol A (tr = 11,6 min), de l'éthinylestradiol (tr = 15,7 min) et de l'estrone (17,8 min).

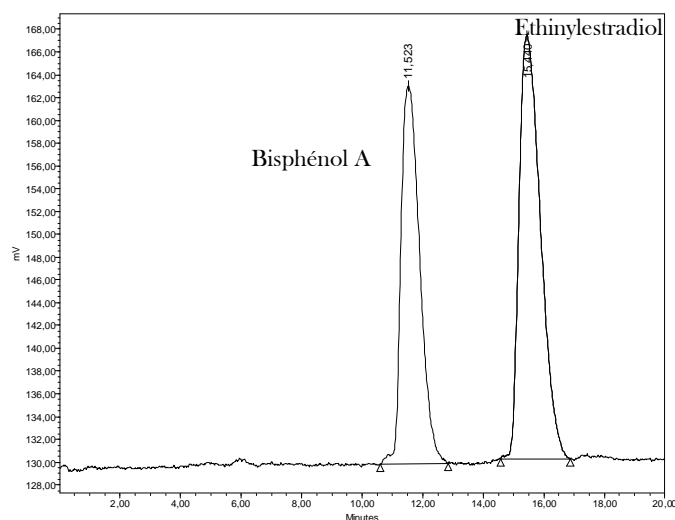


Figure II.7 Chromatogramme d'une solution étalon non extraite de bisphénol A et d'éthinylestradiol obtenu par HPLC-Fluo (C = 200 µg.L<sup>-1</sup>)

La figure II.7 présente un chromatogramme d'une solution étalon non extraite d'une concentration de 200 µg.L<sup>-1</sup>. L'estrone répond faiblement aux longueurs d'onde de travail, le pic chromatographique est peu visible lorsque les composés cibles sont concentrés. Une explication pourrait être que le groupement cétone de l'hormone est un groupement inhibiteur du phénomène de fluorescence. Il n'est cependant pas utilisé pour le traitement des résultats obtenus de la méthode d'analyse HPLC-Fluo. L'annexe II.2 montre la séparation des composés cibles à plus faible concentration, le pic de l'estrone y est notamment visible. Pour les échantillons extraits, un gradient d'élution de 60 min a été optimisé pour l'analyse des trois composés (Figure II.8).

Le solvant d'injection pour les échantillons est choisi pour être en accord avec la phase mobile. Les échantillons non extraits sont composés de 100 % d'eau ultra pure ou naturelle lorsqu'il s'agit d'échantillons de manipulations d'adsorption sur charbon actif, et d'un mélange

60/40 eau ultra pure/acétonitrile pour les solutions étalons. Le solvant d'injection des échantillons extraits correspond au solvant de reprise des extraits évaporés dont la composition sera connue à la suite de l'optimisation de la phase d'extraction sur phase solide.

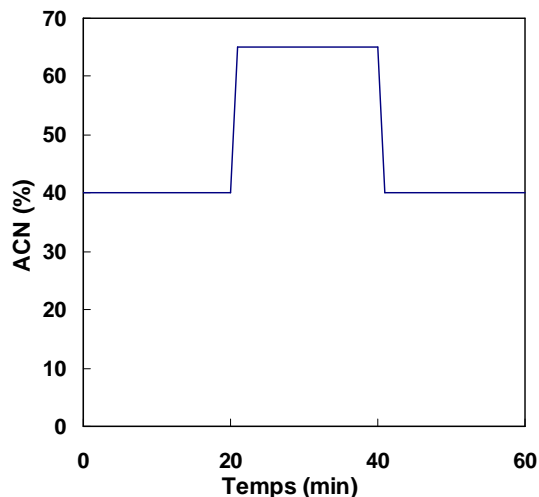


Figure II.8 Gradient d'élution du bisphénol A, de l'éthinylestradiol et de l'estrone par HPLC

### III.3.2. CHROMATOGRAPHIE LIQUIDE ULTRA HAUTE PRESSION

Compte tenu de la rapidité de l'analyse par UHPLC, un seul gradient d'élution de 9,6 min a été optimisé pour les échantillons extraits et non extraits.

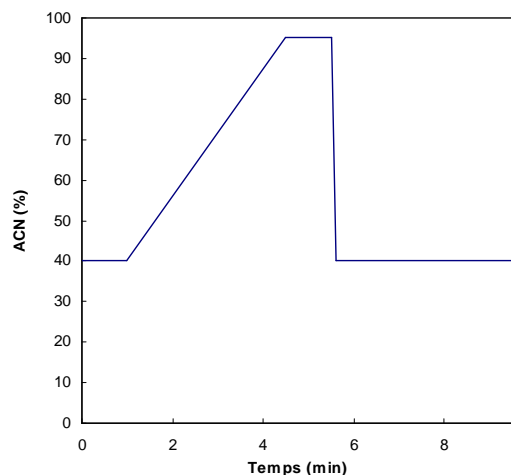


Figure II.9 Gradient d'élution du bisphénol A, de l'éthinylestradiol et de l'estrone par UHPLC

La colonne était thermostatée à 45°C pour diminuer la viscosité de la phase mobile, et le passeur d'échantillon était réglé à 5°C. Le gradient d'élution a été effectué avec de l'acétonitrile de qualité LC-MS en tant que solvant A et un mélange d'acétonitrile de qualité LC-MS et d'eau ultra pure (10/90, v/v) en tant que solvant B, à un débit de 400 µL.min<sup>-1</sup>.

La figure II.9 donne les étapes et les compositions de la phase mobile de ce gradient, et la figure II.10 montre un chromatogramme d'une solution étalon non extraite de bisphénol A et d'éthinylestradiol à une concentration de 200 µg.L<sup>-1</sup>.

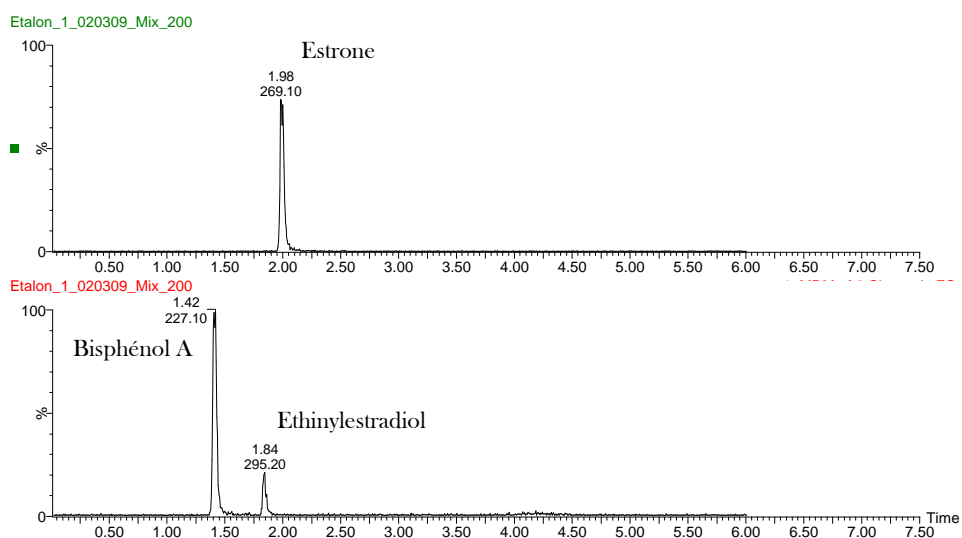


Figure II.10 Chromatogramme d'une solution étalon non extraite de bisphénol A et d'éthinylestradiol obtenu par UHPLC-MS/MS (C = 200 µg.L<sup>-1</sup>, Mode de détection MRM)

### III.4. COMPARAISON DES DETECTIONS SPECTROMETRIQUE ET FLUORIMETRIQUE

Le spectromètre de masse est un détecteur aisément sujet à des variations du signal. Des changements dans les conditions opératoires d'analyse telles que les paramètres du détecteur, pour une transition fixée, ou encore le solvant d'injection de l'échantillon peuvent réduire significativement le signal. Deux paramètres ont été étudiés : la composition du solvant d'injection et la variation du signal dans le temps. La même étude a été réalisée pour la méthode HPLC-Fluo.

### III.4.1. COMPOSITION DU SOLVANT D'INJECTION

Deux gammes à 5 niveaux de concentration ont été réalisées, pour les 2 composés, dans deux solvants d'injections : 100 % d'eau et un mélange EUP/acétonitrile à 60/40 (v/v). Les deux gammes ont été analysées par HPLC-Fluo et UPLC-MS/MS.

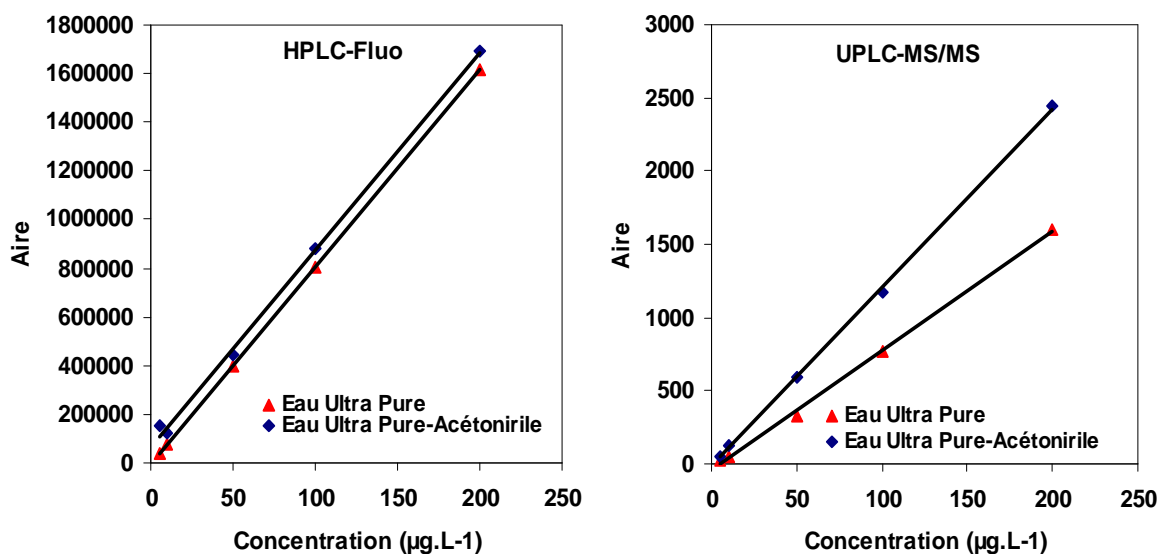


Figure II.11 Droites d'étalonnage du bisphénol A injecté dans l'eau et un mélange eau-acétonitrile en HPLC-Fluo (à gauche) et UPLC-MS/MS (à droite)

Les résultats représentés par la figure II.11 et le tableau II.3 montrent que l'analyse par UPLC-MS/MS est plus sensible au changement du solvant d'injection que l'analyse des mêmes composés par HPLC-Fluo. En détection par spectrométrie masse, la pente de la droite d'étalonnage du bisphénol A injecté dans l'eau est 33 % plus faible que celle de la même molécule injectée dans le mélange hydro-organique. Dans les mêmes conditions, l'éthinylestradiol affiche une diminution de 62 %.

Tableau II.3 Coefficients directeurs des droites d'étalonnages des solutions étalons injectées dans l'eau et un mélange eau-acétonitrile en HPLC-Fluo et UPLC-MS/MS

Molécule	HPLC-Fluo		UPLC-MS/MS	
	a EUP/ACN	a EUP (% variation)	a EUP/ACN	a EUP (% variation)
Bisphénol A	8098	8101 (0)	12,20	8,13 (-33)
Ethinylestradiol	9813	9524 (-3)	2,18	0,81 (-62)

En détection fluorimétrique, il n'y a pas de changement significative de la pente de la droite d'étalonnage lorsque les solutions de bisphénol A et d'éthinylestradiol sont préparées dans l'eau ou un mélange hydro-organique.

En définitive, la sensibilité de la détection par spectrométrie de masse, caractérisée par la pente de la droite d'étalonnage, semble être une fonction du solvant d'injection.

Ces résultats nous indiquent que la présence d'un modificateur organique dans le solvant d'injection améliore la sensibilité de la détection par spectrométrie de masse. Cette propriété est précieuse au choix de la composition du solvant de reprise des extraits lors de l'étape de l'extraction sur phase solide.

### III.4.2. ETUDE DE LA VARIATION DU SIGNAL DANS LE TEMPS

Un spectromètre de masse est en pratique très peu souvent mis hors tension. Il nécessite une longue période de stabilisation, notamment pour l'ultravide dans la cellule de collision. De plus, la mise sous et hors tension de l'appareil sont des manipulations qui peuvent l'endommager, si elles sont effectuées très souvent. Néanmoins, le fait qu'il reste sous tension, même à pression et potentiels stables, ne garantit pas la stabilité du signal dans le temps.

Quatre gammes d'étalonnage à 5 niveaux de concentration ont été effectuées sur quatre jours, à raison d'une gamme par jour. L'évolution de la pente de la droite d'étalonnage a été suivie pour les deux molécules étudiées et pour les deux modes de détection.

Tableau II.4 Evolution du coefficient directeur de la droite d'étalonnage de la méthode HPLC-Fluo

Molécule	Jour 1	Jour 2	Jour 3	Jour 4	Coefficient de variation (%)
Bisphénol A	8071	7959	7617	7617	3,00
Ethinylestradiol	9587	9515	9208	9522	1,80

Tableau II.5 Evolution du coefficient directeur de la droite d'étalonnage de la méthode UPLC-MS/MS

Molécule	Jour 1	Jour 2	Jour 3	Jour 4	Coefficient de variation (%)
Bisphénol A	39,41	39,80	39,51	29,28	13,92
Ethinylestradiol	7,95	7,78	9,52	7,03	12,95

Les tableaux II.4 et II.5 montrent que la sensibilité du spectromètre de masse varie davantage d'un jour à l'autre que celle du fluorimètre. Ceci implique que le dosage d'échantillons

inconnus doit être accompagné d'une gamme étalon pour une quantification juste par spectrométrie de masse.

Compte tenu de la variation inter-jour significative du signal du spectromètre de masse, la variation intra-jour a été étudiée. Chaque niveau de concentration d'une gamme non extraite a été injecté cinq fois, les uns à la suite des autres.

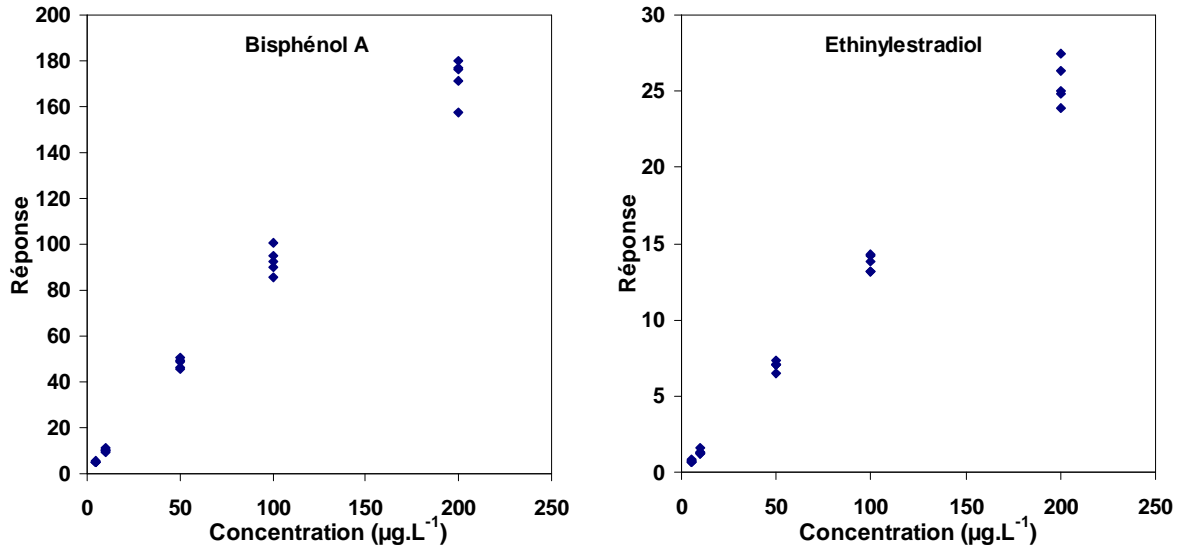


Figure II.12 Droites d'étalonnage intra-jour de la gamme non extraite pour le bisphénol A et l'éthinylestradiol

La figure II.12 montre que le signal du spectromètre de masse varie également sur de courtes durées : le premier et le dernier point de chaque niveau de concentration de la gamme ont été injectés à 40 min d'intervalle. De plus, la figure montre que cette variation du signal est fonction de la concentration de l'échantillon ; en effet chaque niveau a été injecté de la même façon.

Les résultats montrés ici suggèrent une hétéroscédasticité de la variance de la réponse obtenue par le spectromètre de masse. L'erreur sur la réponse du détecteur n'est donc pas constante sur le domaine de concentration. Cette propriété du détecteur sera à prendre en compte lors de la validation. Tout d'abord, pour la linéarité, une régression linéaire pondérée sera appliquée. Ensuite, nous avons vu lors de l'étude bibliographique que le calcul des limites de détection et de quantification prend en compte la variance au niveau 0 ( $s_0$ ) en la supposant égale à  $s_D$  et  $s_Q$ . Ici, cette hypothèse n'est plus valable et le calcul des limites devra être effectué par un autre moyen. Enfin, l'intervalle de confiance sur la valeur estimée sera logiquement plus important pour les fortes concentrations du domaine que pour les faibles, à l'image de la variance de la réponse. De la même façon que pour les limites de la méthode, les intervalles de confiance

devront être calculés en tenant compte de cette propriété du détecteur. En revanche, les paramètres de validation de la méthode d'analyse faisant appel à la fluorescence UV pourront être calculés comme nous l'avons vu dans le chapitre bibliographique.

### III.5. OPTIMISATION DE L'EXTRACTION SUR PHASE SOLIDE

La recherche bibliographique montre des méthodes d'analyse multi-résidus où le pH de l'échantillon est augmenté ou bien abaissé de façon à obtenir un meilleur rendement global. Dans notre cas, les deux molécules cibles sont sous forme protonée aux différents pH de travail ( $pK_{a1}$  BPA = 9,6 et  $pK_a$  EE2 = 10,2), le pH de la solution n'est donc pas modifié avant l'extraction.

Deux cartouches de phase polymérique (Strata X et Oasis HLB) et une de phase silice greffée C18 (Sep Pak), et leurs protocoles d'éluion correspondants (voir Annexe II.1 et Figure II.2, respectivement) ont été testés pour l'extraction des analytes. Pour chaque adsorbant, 5 solutions étalons de la gamme extraite (de 5 à 200 ng.L<sup>-1</sup>) et un blanc ont été extraits. Le choix de la phase adsorbante s'est effectué sur l'obtention des meilleurs rendements et coefficients de corrélation.

Tableau II.6 Rendement et coefficient de corrélation pour le BPA et l'EE2 extraits par les cartouches Oasis HLB, Strata X et Sep Pak C18 (FC = 2500)

Molécule	Oasis HLB		Strata X		Sep Pak C18	
	Rendement (%)	r <sup>2</sup>	Rendement (%)	r <sup>2</sup>	Rendement (%)	r <sup>2</sup>
Ethinylestradiol	81	0,9929	7,2	0,8179	91	0,9994
Bisphénol A	78	0,9980	1,5	0,3828	96	0,9998

Les cartouches Strata X ont montré une faible rétention des analytes (Tableau II.6). Les meilleurs rendements et coefficients de corrélation ont été obtenus avec la cartouche Sep Pak C18. Cette phase adsorbante a donc été sélectionnée pour l'étape d'extraction de la méthode d'analyse de traces. Dans la phase de validation, les extraits seront analysés par UPLC-MS/MS, puis par HPLC-Fluo. Le rendement moyen d'extraction et sa répétabilité, évaluée par la valeur du RSD des 5 répliqués, ont été déterminés une fois la phase adsorbante et le protocole d'extraction sélectionnés, et sont inclus dans la partie validation.

Le solvant de reprise des extraits évaporés a été choisi de telle sorte qu'il permette la dissolution totale des extraits, une bonne séparation chromatographique et une forte sensibilité

en détection spectrométrique (Figure II.11). Il a donc été choisi de même composition que le début du gradient de l'analyse chromatographique HPLC et UHPLC.

## **IV. VALIDATION ET COMPARAISON DES METHODES D'ANALYSE**

L'évaluation des méthodes d'analyse du bisphénol A et de l'éthinylestradiol a été effectuée en suivant le protocole de l'AFNOR (XP T 90-210). Compte tenu du besoin de l'analyse d'échantillons à haute et basse concentrations en eaux ultra pure et naturelle lors de l'étude d'adsorption, les deux méthodes d'analyse ont été évaluées pour trois gammes d'étalonnage : la gamme non extraite, et les gammes extraites préparées dans l'eau ultra pure et l'eau naturelle. Ainsi, des performances propres à chaque type d'échantillon et niveau de concentration ont été déterminées durant cette évaluation. Cinq solutions étalons (5, 10, 50, 100 et 200  $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) ont été préparées pour constituer la gamme non extraite, et cinq gammes à raison d'une gamme par jour ont été réalisées au total. De la même façon, cinq réplicats de cinq solutions étalons des gammes extraites (5, 10, 50, 100 et 200  $\text{ng.L}^{-1}$ ) préparées dans l'eau ultra pure et l'eau naturelle ont été extraits et concentrés sur la phase adsorbante sélectionnée. Les trois types de solutions étalons ont été analysés par UPLC-MS/MS et HPLC-Fluo. Les résultats obtenus ont servi à la réalisation des droites d'étalonnages. Deux campagnes de validation ont été effectuées à deux mois d'intervalle. Lors de la première campagne, le bisphénol A et l'éthinylestradiol ont été évalués. Les résultats de la seconde campagne concernent uniquement l'hormone de synthèse.

Afin de ne pas apporter de variabilité liée à la préparation des étalons dans la comparaison des deux méthodes d'analyse, nous avons choisi d'injecter les mêmes solutions étalons successivement dans les deux appareils. Les solutions étalons analysées par UPLC-MS/MS sont de nature hydro-organique, à haute comme à basse concentration. Dans la pratique, seuls les échantillons extraits seront de cette nature. L'évaluation de la méthode HPLC-Fluo pour les hautes concentrations a donc été effectuée à l'aide de solutions étalons non extraites de nature hydro-organique alors que les échantillons haute concentration des manipulations d'adsorption seront uniquement composés d'eau. Cependant, nous avons montré que l'étalonnage de la méthode HPLC-Fluo varie peu avec le type de solvant d'injection. Les performances de cette méthode pour des échantillons aqueux seront donc déduites des résultats obtenus ici.



## IV.1.PERFORMANCES DES METHODES HPLC-FLUO ET UPLC-MS/MS

Comme nous l'avons vu et comme il a déjà été remarqué par Gervais *et al.*, (2008), la dispersion de la réponse du spectromètre de masse est hétéroscédastique et proportionnelle à la concentration de l'échantillon détecté. Cette propriété de l'analyse LC-MS nous a conduits à l'utilisation d'une régression linéaire pondérée pour le calcul des paramètres des droites d'étalonnage de notre méthode UPLC-MS/MS. Le choix de la valeur du poids sera discuté dans la partie dédiée au calcul des limites et des intervalles de confiance (§ IV.5). La régression linéaire classique a été utilisée pour le calcul des paramètres statistiques de la méthode HPLC-Fluo, puisque la dispersion du signal a été montrée homoscedastique pour la détection fluorimétrique.

### IV.1.1. ETALONNAGE

Le modèle linéaire a été validé pour toutes les gammes étalons testées. Les résultats obtenus quant à la validité du modèle linéaire sur le domaine étudié pour le BPA et l'EE2 dans les trois types de solutions étalons sont regroupés dans les tableaux II.7 et II.8 respectivement. Rappelons que les domaines d'étalonnage sont de 5 à 200 µg.L<sup>-1</sup> pour les solutions étalons non extraites et de 5 à 200 ng.L<sup>-1</sup> pour les solutions étalons extraites.

Tableau II.7 Coefficient de corrélation et validité de l'étalonnage par l'analyse des variances pour le bisphénol A

Bisphénol A						
Appareil	Gamme	F <sub>nl</sub>	VC à 1 %	Décision	Coefficient de corrélation r <sup>2</sup>	
HPLC-Fluo	Non extraite	0,36	< 4,94	Domaine de linéarité validé	0,998	
	Extraite EUP	0,35	< 4,94	Domaine de linéarité validé	0,993	
	Extraite naturelle	0,28	< 4,94	Domaine de linéarité validé	0,984	
UPLC-MS/MS	Non extraite	0,38	< 4,94	Domaine de linéarité validé	0,991	
	Extraite EUP	4,46	< 4,94	Domaine de linéarité validé	0,988	
	Extraite naturelle	1,53	< 4,94	Domaine de linéarité validé	0,983	

VC : Valeur critique

Tableau II.8 Coefficient de corrélation et validité de l'étalonnage par l'analyse des variances pour l'éthinylestradiol

		Ethinylestradiol							
		Campagne 1				Campagne 2			
Appareil	Gamme	F <sub>nl</sub>	VC à 1 %	Décision	r <sup>2</sup>	F <sub>nl</sub>	VC à 1 %	Décision	r <sup>2</sup>
HPLC-Fluo	Non extraite	0,52	< 4,94	Validé	0,995	0,503	< 4,94	Validé	0,999
	Extraite EUP	1,09	< 4,94	Validé	0,998	0,377	< 4,94	Validé	0,997
	Extraite naturelle	0,52	< 4,94	Validé	0,986	1,73	< 4,94	Validé	0,996
UPLC-MS/MS	Non extraite	2,05	< 4,94	Validé	0,991	1,51	< 4,94	Validé	0,995
	Extraite EUP	1,64	< 4,94	Validé	0,988	2,08	< 4,94	Validé	0,989
	Extraite naturelle	0,92	< 4,94	Validé	0,987	0,13	< 4,94	Validé	0,975

VC : Valeur critique

L'étalonnage a été validé pour les deux techniques d'analyse, les deux molécules, les trois types de solution étalon, et les deux campagnes de validation.

#### IV.1.2. RENDEMENTS D'EXTRACTION

L'évaluation des performances d'extraction de la phase sélectionnée a été effectuée pour les gammes extraites préparées dans l'eau ultra pure et l'eau naturelle. Les résultats obtenus des deux appareils d'analyse sont donnés dans le tableau II.9.

Tableau II.9 Rendement d'extraction du BPA et de l'EE2 dans l'eau ultra pure et naturelle déterminés par HPLC-Fluo et UPLC-MS/MS. (FC = 2500)

Rendement d'extraction (%RSD)	HPLC-Fluo		UPLC-MS/MS	
	Eau ultra pure	Eau naturelle	Eau ultra pure	Eau naturelle
Bisphénol A (campagne 1)	97 (8)	102 (10)	114 (12)	115 (12)
Ethinylestradiol (campagne 1)	93 (2)	96 (6)	91 (4)	96 (9)
Ethinylestradiol (campagne 2)	90 (3)	89 (5)	121 (6)	123 (14)

Valeurs RSD et Répétabilité calculées avec 5 réplicats

De bons rendements d'extraction ont été obtenus quel que soit le type d'eau ou la molécule cible. La répétabilité de l'extraction est satisfaisante puisque qu'elle varie de 2 à 14 %, quels que soient le perturbateur endocrinien considéré et la campagne de validation. Ces résultats

suggèrent que la matrice de l'eau naturelle n'a pas d'effet significatif sur l'extraction des deux molécules.

Le tableau II.9 montre également que les rendements d'extraction de l'EE2 varient d'une campagne de validation à l'autre. Cette variation, significative dans le cas de l'eau ultra pure, peut être expliquée par un changement dans les conditions opératoires de l'extraction, telles que l'utilisation de cartouches d'extraction de lots différents. Cependant, les valeurs de RSD correspondantes montrent une bonne répétabilité de l'extraction (5 gammes d'étalonnage). La précision de l'extraction est aussi importante que le rendement lors de l'analyse d'échantillons inconnus. En effet, bien que l'application de la méthode de l'étalonnage interne (ajouté dans la matrice avant l'extraction) permette de compenser -aussi- les variations de l'extraction lors de l'analyse, l'homogénéité de ce paramètre entre les gammes d'étalonnage et les échantillons inconnus sera synonyme de justesse de la concentration estimée.

#### IV.1.3. REPETABILITE ET JUSTESSE

L'évaluation de l'exactitude (répétabilité et justesse) des méthodes d'analyse a été effectuée sur les résultats des solutions étalons utilisées pour l'évaluation de la linéarité. Ce sont donc une répétabilité et une justesse inter jour qui seront déterminées. La répétabilité et la justesse intra jour ne pouvaient être déterminées sur les deux appareils pour les gammes étalons extraites puisque les échantillons de cette gamme sont injectés sous la forme concentrée et représentent alors un volume de 200  $\mu\text{L}$ . Un volume d'injection de 50  $\mu\text{L}$  est nécessaire pour l'analyse par HPLC-Fluo.

La norme AFNOR propose d'évaluer la répétabilité de l'analyse d'échantillons en deux étapes : vérifier sa stabilité et comparer la variance de répétabilité à celle d'une méthode de référence. Dans ce travail, l'évaluation s'est portée sur les solutions étalons, admise comme la méthode de référence par la norme AFNOR.

##### IV.1.3.1. Stabilité de la répétabilité

Dans notre cas, la stabilité de la répétabilité inter jour peut être effectuée sur les niveaux de la gamme d'étalonnage. Il est d'ores et déjà possible de prévoir que la méthode d'analyse UPLC-MS/MS risque de ne pas répondre à ce critère. En revanche, la méthode d'analyse par HPLC-Fluo, de variance homoscedastique, est sensée montrer une stabilité de sa répétabilité inter jour sur le domaine de concentration.

Tableau II.10 Test de la stabilité de la variance pour le bisphénol A

Appareil	Gamme	Bisphénol A			
		$C_{x,obs}$	$C_x$ à 1 %	Décision	
HPLC-Fluo	Non extraite	0,452	<	0,633	Stabilité de la variance validée
	Extraite EUP	0,597	<	0,633	Stabilité de la variance validée
	Extraite naturelle	0,357	<	0,633	Stabilité de la variance validée
UPLC-MS/MS	Non extraite	0,531	<	0,633	Stabilité de la variance validée
	Extraite EUP	<b>0,638</b>	>	<b>0,633</b>	<b>Stabilité de la variance non validée</b>
	Extraite naturelle	<b>0,897</b>	>	<b>0,633</b>	<b>Stabilité de la variance non validée</b>
UPLC-MS/MS	Non extraite	0,557	<	0,633	Stabilité de la variance validée
(pondération	Extraite EUP	0,411	<	0,633	Stabilité de la variance validée
$h = x^{0,5}$ )	Extraite naturelle	0,424	<	0,633	Stabilité de la variance validée

Les valeurs critiques choisies sont celles de la norme XP T 90-210. Elles peuvent par conséquent être plus discriminantes pour une répétabilité inter jour, qui reflète la variation de l'appareil d'analyse mais également la préparation de solutions étalons indépendantes. Le test de Cochran vérifie que les variances de chaque niveau de concentration des gammes évaluées ne sont pas significativement différentes (Chapitre I, § II.3.2). Les tableaux II.10 et II.11 donnent pour le BPA et l'EE2 respectivement, les résultats pour les trois étalonnages, et les deux appareils. Les calculs de variances pour la méthode d'analyse par UPLC-MS/MS ont été effectués sans et avec pondération. La pondération appliquée est du type  $h(x) = x^{0,5}$ , disponible sur le logiciel de traitement de données du spectromètre de masse (Mass Lynx), et couramment utilisé pour l'obtention des droites d'étalonnage.

La stabilité de la répétabilité de la méthode HPLC-Fluo a été validée. En revanche, l'hétéroscédasticité de la variance de la méthode UPLC-MS/MS a conduit à la décision de non stabilité de la variance pour quatre étalonnages. L'utilisation d'une pondération a logiquement corrigé le défaut de stabilité.

Tableau II.11 Test de la stabilité de la variance pour l'éthinylestradiol

Appareil	Gamme	Campagne 1			Campagne 2		
		C <sub>x,obs</sub>	C <sub>x</sub> à 1 %	Décision	C <sub>x,obs</sub>	C <sub>x</sub> à 1 %	Décision
HPLC-Fluo	Non extraite	0,394	< 0,633	Validé	0,478	< 0,633	Validé
	Extraite EUP	0,581	< 0,633	Validé	0,426	< 0,633	Validé
	Extraite naturelle	0,530	< 0,633	Validé	0,525	< 0,633	Validé
UPLC-MS/MS (sans pondération)	Non extraite	0,413	< 0,633	Validé	0,458	< 0,633	Validé
	Extraite EUP	0,580	< 0,633	Validé	0,516	< 0,633	Validé
	Extraite naturelle	<b>0,692</b>	<b>&gt; 0,633</b>	<b>NON-Validé</b>	<b>0,814</b>	<b>&gt; 0,633</b>	<b>NON-Validé</b>
UPLC-MS/MS (pondération h = x <sup>0.5</sup> )	Non extraite	0,571	< 0,633	Validé	0,351	< 0,633	Validé
	Extraite EUP	0,305	< 0,633	Validé	0,322	< 0,633	Validé
	Extraite naturelle	0,378	< 0,633	Validé	0,603	< 0,633	Validé

#### IV.1.3.2. Variance de répétabilité

La variance de répétabilité a été estimée à l'aide de la moyenne des coefficients de variation de la concentration calculée pour l'injection de cinq réplicats de la solution étalon à 10 µg.L<sup>-1</sup> pour les gammes non extraites et 10 ng.L<sup>-1</sup> pour les gammes extraites (Tableau II.12). Les valeurs obtenues pour la méthode HPLC-Fluo peuvent être considérées représentatives du domaine total de concentration. Ce n'est pas le cas pour la méthode d'analyse par UPLC-MS/MS.

Tableau II.12 Répétabilité de l'étalonnage par l'analyse des variances

	Répétabilité (%) à 10 µg.L <sup>-1</sup> ou 10 ng.L <sup>-1</sup>					
	HPLC-Fluo			UPLC-MS/MS		
	Gamme non extraite	Gamme extraite EUP	Gamme extraite eau naturelle	Gamme non extraite	Gamme extraite EUP	Gamme extraite eau naturelle
Bisphénol A (C1)	19	34	23	12	26	34
Ethinylestradiol (C1)	14	11	14	14	20	19
Ethinylestradiol (C2)	10	26	5	11	14	18

Dans le cas d'une hétéroscédasticité de la variance du signal, l'étude de la répétabilité selon le protocole proposé par l'AFNOR n'est pas adaptée. En effet, il est très possible que la stabilité de la répétabilité sur tout le domaine de concentration ne soit pas validée. Ainsi, une alternative pourrait être l'étude de la stabilité de la répétabilité inter jour, pour des niveaux de concentration donnés. Dans notre cas, la répétabilité de la méthode UPLC-MS/MS pourrait être évaluée à travers l'analyse de solutions de plusieurs niveaux de concentration, pendant plusieurs jours avec plusieurs injections par jour. Les variances de chaque jour pourraient ainsi être comparées, pour chaque niveau de concentration. Ce protocole permettrait également de vérifier que la dispersion de la variance obéit toujours à la même loi et que par conséquent la pondération employée soit toujours adaptée.

#### IV.1.3.3. Justesse

Ce test permet de vérifier l'étroitesse de l'accord entre une mesure, ou la moyenne des mesures, et la valeur conventionnellement vraie (Chapitre I, § II.3.2). L'hétéroscédasticité de la variance de la méthode UPLC-MS/MS n'a pas d'effet sur la justesse, elle traduit uniquement une précision variable sur le domaine d'étalonnage. Par conséquent, ce paramètre peut être évalué pour les deux méthodes par le protocole proposé par l'AFNOR. Les tableaux II.13 et II.14 montrent les résultats obtenus pour les deux appareils d'analyse et les trois étalonnages, pour le BPA et l'EE2 respectivement. Pour chaque méthode d'analyse et chaque gamme d'étalonnage, la justesse a été évaluée sur l'ensemble du domaine de concentration (5 réplicats de 5 niveaux de concentration).

Tableau II.13 Test de justesse pour le bisphénol A

Appareil	Bisphénol A			
	Gamme	$u_{obs}$	$u$ à 1 %	Décision
HPLC-Fluo	Non extraite	1,24	< 3	Justesse de la méthode validée
	Extraite EUP	1,33	< 3	Justesse de la méthode validée
	Extraite naturelle	1,03	< 3	Justesse de la méthode validée
UPLC-MS/MS	Non extraite	1,16	< 3	Justesse de la méthode validée
	Extraite EUP	1,14	< 3	Justesse de la méthode validée
	Extraite naturelle	0,86	< 3	Justesse de la méthode validée

Tableau II.14 Test de justesse pour l'éthinylestradiol

Appareil	Gamme	Campagne 1			Campagne 2		
		$u_{obs}$	$u$ à 1 %	Décision	$u_{obs}$	$u$ à 1 %	Décision
HPLC-Fluo	Non extraite	1,15	< 3	Validé	1,23	< 3	Validé
	Extraite EUP	1,00	< 3	Validé	0,98	< 3	Validé
	Extraite naturelle	0,89	< 3	Validé	1,14	< 3	Validé
UPLC-MS/MS (pondération $h = x^{0,5}$ )	Non extraite	1,00	< 3	Validé	0,99	< 3	Validé
	Extraite EUP	1,08	< 3	Validé	0,87	< 3	Validé
	Extraite naturelle	0,83	< 3	Validé	0,75	< 3	Validé

Les résultats montrent que les méthodes d'analyse sur les deux appareils sont justes. Pour la méthode d'analyse par UPLC-MS/MS, les résultats qui figurent dans le tableau II.14 sont issus du test de justesse sur les données pondérées. La justesse de la méthode non pondérée a également été évaluée et validée pour les gammes d'étalonnage. Ceci confirme que précision et justesse sont dissociées vis-à-vis de l'hétéroscédasticité de la variance.

#### IV.1.4. LIMITES DE LA METHODE ET DES RESULTATS

##### IV.1.4.1. Analyse de l'Hétéroscédasticité de la réponse en UPLC-MS/MS

La réponse obtenue par le couplage UPLC-MS/MS présente une évolution de la variance en fonction de la concentration injectée.

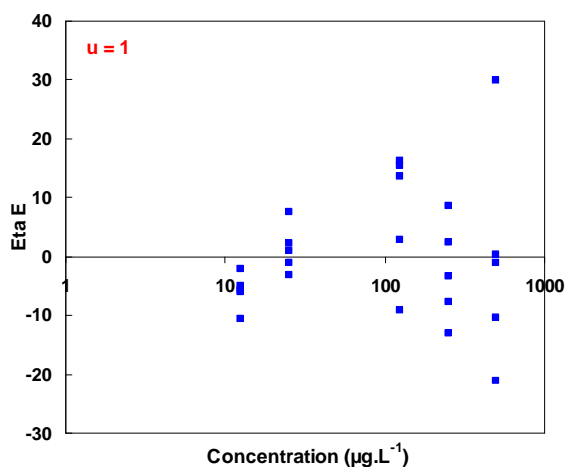


Figure II.13 Représentation des résidus de régression sans pondération

La figure II.13 présente les valeurs des résidus, i.e. la différence entre la valeur de  $y$  calculé et la valeur de  $y$  expérimental divisée par la fonction  $h(x)$ , après une régression non pondérée. L'augmentation de la variabilité  $y$  apparait nettement.

Lors de l'étude bibliographique, il est apparu qu'il était possible de formaliser l'expression d'une pondération en considérant une fonction de variation de l'écart-type de la réponse avec la concentration injectée

$$s_{e_{x_i}} \approx s_0 \cdot h(x_i) \quad (2.2)$$

Les relations les plus classiques sont :

$$h(x_i) = \sqrt{x_i} \quad \rightarrow \quad w_i = \frac{1}{x_i} \quad \text{Hubert et al., (2007)} \quad (2.3)$$

$$h(x_i) = x_i \quad \rightarrow \quad w_i = \frac{1}{x_i^2} \quad \text{Hubert et al., (2007)} \quad (2.4)$$

La plupart des logiciels de traitement du signal propose ce type de pondération. Elles ont l'avantage de ne pas nécessiter d'analyse préalable des résultats puisque la seule information nécessaire au moment de la régression est la valeur  $x_i$ , la valeur conventionnellement vraie de la concentration.

Leur principal défaut est de supposer, de fait, que la variance du blanc est nulle.

$$s_{e_{x_i=0}} = s_{e_{x=1}} \cdot x^p = 0 \quad \forall p$$

Afin de travailler sur un ensemble plus vaste de données, nous avons analysé les résultats obtenus précédemment par G. Gervais (2008) sur le même équipement avec des conditions d'élutions et de préparation d'échantillon assez similaires. Il a travaillé sur 31 molécules actives (pesticides de différentes familles chimiques), pour lesquelles il a effectué 27 gammes extraites en eau ultra pure dans le domaine 20 à 500 ng.L<sup>-1</sup>. Il a également étudié les blancs. Nous avons déterminé, pour chaque composé et chaque niveau, la variance des réponses. La régression logarithmique de ces variances avec la concentration permet de remonter à la valeur de la puissance  $p$  et à la variance de référence, ici la variance quand  $x = 1$  ng.L<sup>-1</sup> (Figure II.14).

Il apparait que l'évolution de l'écart-type se fait le plus souvent avec un degré proche de 2 (Figure II.15), mais cela peut varier légèrement d'un composé à l'autre avec quelques composés aux environs de 1,5 et un composé proche de 1. Les variances de référence obtenues, correspondant à  $x = 1$  ng. L<sup>-1</sup>, peuvent ensuite être comparées aux variances des blancs (Figure II.16).



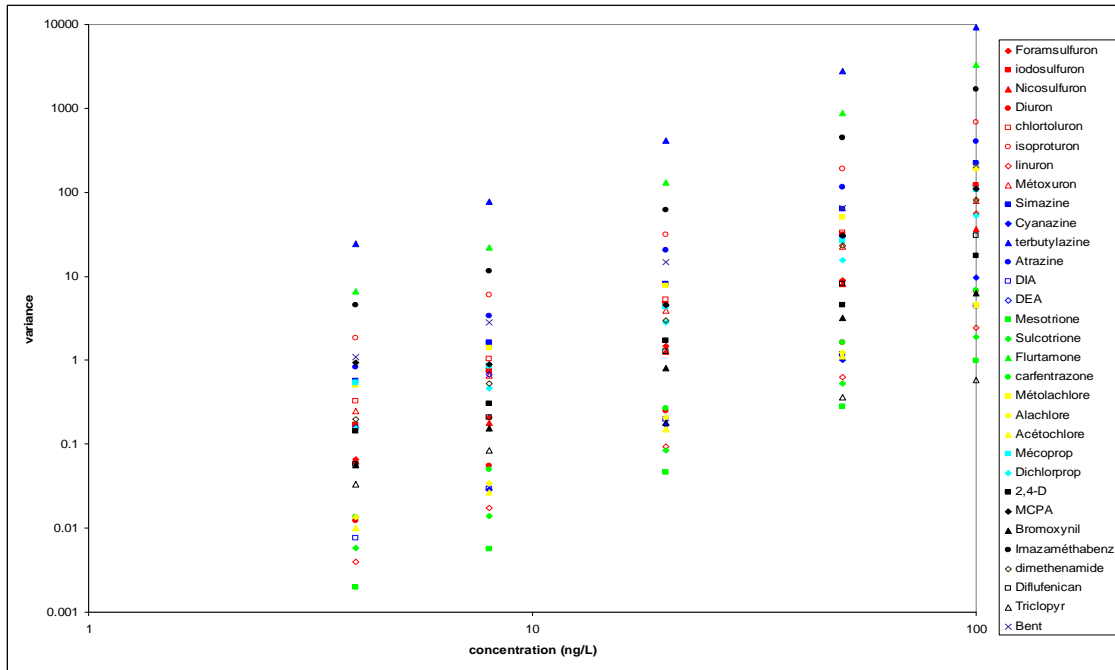


Figure II.14 Evolution des variances des réponses en fonction de la concentration

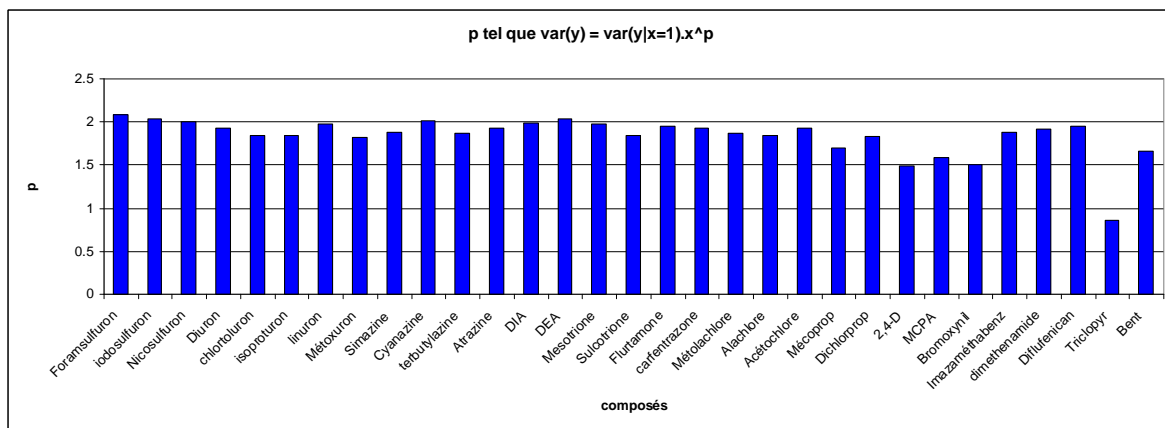


Figure II.15 Valeur de la puissance  $p$  de la pondération selon le composé.

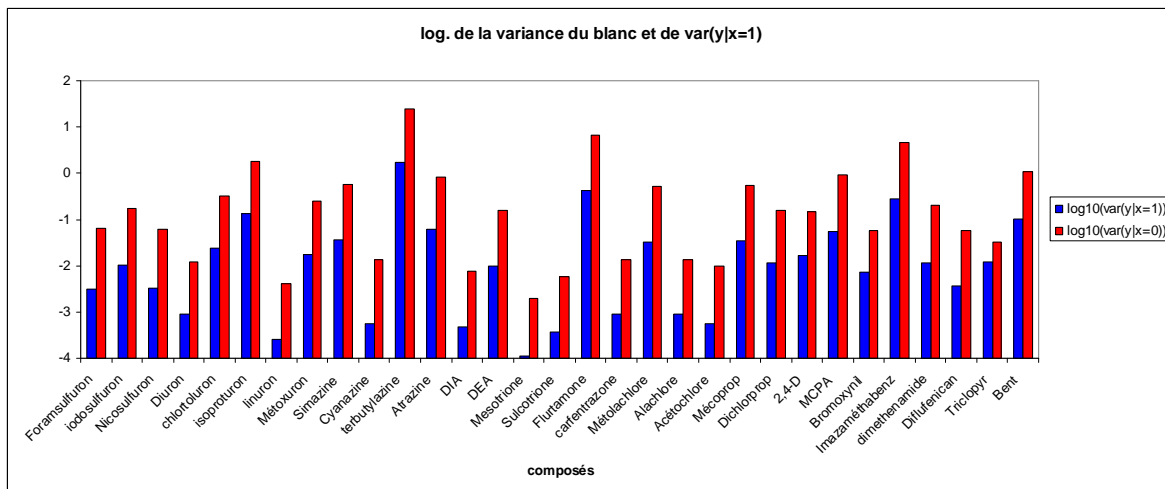


Figure II.16 Comparaison selon le composé de la variance du blanc (en rouge) et de la variance de référence (bleu) pour la pondération.

Le résultat est improbable : la variance de référence est systématiquement inférieure à la variance du blanc. Ce qui, bien sûr, n'est absolument pas réaliste. Le risque est également d'être plus « optimiste » quant aux limites de détection et de quantification lorsqu'elles sont obtenues par extrapolation de la droite d'étalonnage.

Afin de résoudre cette difficulté, nous allons envisager des fonctions de pondération susceptibles de mieux représenter le comportement réel du système.

$$h(x_i) = 1 + \mu \cdot x_i \quad \rightarrow \quad w_i = \frac{1}{h^2(x_i)} \quad \text{Voigtman (2008c)} \quad (2.5)$$

$$h(x_i) = 1 + \mu \cdot x_i + \rho \cdot x_i^2 \quad \rightarrow \quad w_i = \frac{1}{h^2(x_i)} \quad \text{Voigtman (2008c)} \quad (2.6)$$

$$h(x_i) = 1 + \lambda^2 \cdot x_i^2 \quad \rightarrow \quad w_i = \frac{1}{h^2(x_i)} \quad \text{Voigtman (2008c)} \quad (2.7)$$

Ces relations doivent être ajustées avant de pouvoir être utilisées lors des régressions. La figure II.17 présente un exemple d'ajustement des différentes fonctions. L'ajustement des divers paramètres d'une fonction a été fait par minimisation de la somme des carrés des écarts relatifs entre les variances expérimentales et les variances déterminées par l'une des formules. Le solveur d'Excel s'est avéré suffisant pour ces calculs. La fonction quadratique 2.6, comportant deux paramètres d'ajustement, est plus « malléable », ce qui lui permet de compenser les défauts lorsque la relation entre concentration et écart-type relève d'un degré réel différent de 1 ou 2.

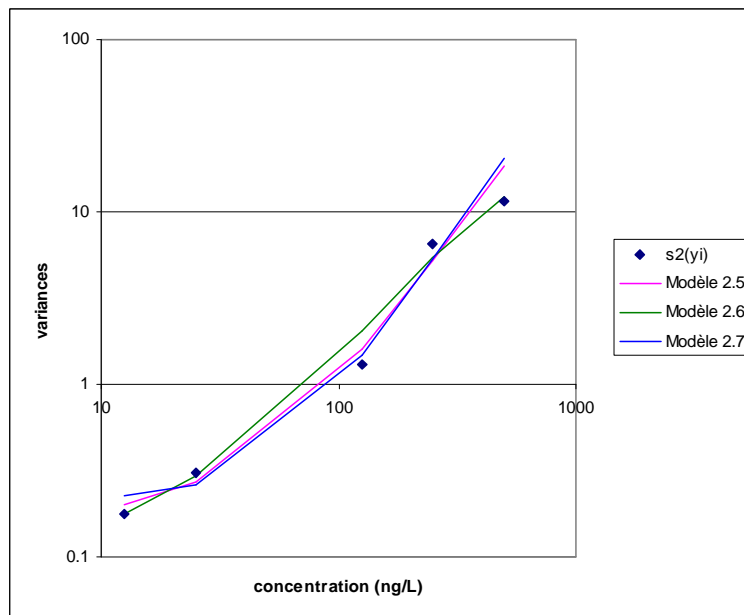


Figure II.1 7 Comparaison des différents modèles de Voigtman (2.5, 2.6 et 2.7) dans le cas de l'éthinylestradiol pour la gamme extraite en Eau Ultra-Pure

L'impact des différentes fonctions de pondération peut être examiné sous plusieurs angles :

- le maximum de vraisemblance (ou de son logarithme) donne une indication sur une cohérence globale. Plus cette valeur est grande plus l'hypothèse que les distributions, supposées normales, pour toutes les mesures sont bien représentées, est vraie.
- Le coefficient de régression pondéré, qui permet de savoir si la pondération réduit la part non-expliquée de la variabilité des mesures.
- Les valeurs des paramètres de la droite d'étalonnage obtenue, et plus particulièrement leur coefficient de variation, qui permettent de savoir si une pondération donnera un résultat plus précis qu'une autre.

Les tableaux II.15 et II.16 présentent les résultats pour deux situations très différentes, le premier concerne une gamme étalon de BPA injecté directement avec répétitions intra jour, le second résume les résultats pour des gammes d'EE2 extraites d'une eau naturelle sur plusieurs jours.

Tableau II.15 Résultats des régressions et vraisemblance du résultat pour une gamme non extraite en intra-jour pour le BPA

		Coefficients de la régression			R <sup>2</sup> pondéré	Log(vraisemblance)
			Valeur	CV %		
BPA - Non extrait - Intra-jour	h=1	b	3,130	47,45 %	0,9935	-75,777
		a	0,857	1,69 %		
	h=x <sup>0,5</sup>	b	1,193	36,19 %	0,9935	-61,387
		a	0,884	1,48 %		
	h=x	b	0,773	21,42 %	0,9924	-53,626
		a	0,912	1,83 %		
	h=modèle 2.6	b	0,857	21,26 %	0,9967	-54,256
		a	0,901	1,71 %		

b : ordonnée à l'origine, a : pente de la droite d'étalonnage

Tableau II.16 Résultats des régressions et vraisemblance du résultat pour une gamme extraite d'une eau naturelle pour l'Ethinylestradiol

		Coefficients de la régression		R <sup>2</sup> pondéré	Log(vraisemblance)	
		Valeur	CV %			
EE2 - gamme extraite - Eau Naturelle	h=1	b	0,483	141,87 %	0,9846	-56,459
		a	0,1027	2,60 %		
	h=x <sup>0.5</sup>	b	-0,0106	-1945,84 %	0,9872	-42,875
		a	0,1054	2,37 %		
	h=x	b	-0,1554	-71,46 %	0,9631	-43,576
		a	0,1092	4,08 %		
	h=modèle 2.6	b	-0,0490	-338,79 %	0,9826	-41,526
		a	0,1070	2,77 %		

b : ordonnée à l'origine, a : pente de la droite d'étalonnage

Les valeurs extrêmes des CV de l'ordonnée à l'origine, b, dans la table II.16 signalent simplement que b ne peut être significativement distingué de la valeur 0.

L'absence de pondération est clairement l'approche la moins vraisemblable, ce qui n'est guère surprenant. La pondération n'a pas un impact important sur la valeur et la précision de la pente de la droite d'étalonnage. Le plus souvent les intervalles de confiance se chevauchent. L'ordonnée à l'origine est beaucoup plus sensible à ce choix. Dans l'exemple de la table II.15, les fonctions h(x) quadratiques sont les plus vraisemblables avec un très léger avantage sur ce plan à h(x)=x. Cependant, l'ajustement est meilleur (R<sup>2</sup> pondéré) et les coefficients obtenus plus précis avec l'équation 2.6. Pour les gammes extraites de l'eau naturelle de l'EE2 (Tableau II.16), les trois fonctions ont des vraisemblances proches, la fonction h(x)=x conduit à une moins bonne régression. Les deux autres fonctions ont des régressions et des précisions similaires.

Le véritable impact du choix d'une fonction de variation de l'écart-type des mesures avec la concentration apparaît surtout lorsque les informations obtenues sont exploitées pour déduire les limites de la méthode et l'intervalle de confiance du résultat d'une analyse d'un échantillon inconnu.

L'application des relations fournies par la littérature dans le cas général (et donc hétéroscédastique) concernant la limite de détection (1.51), la limite de quantification (1.53), et la variance du signal net (1.59) associée à fonction de variation de l'écart-type, nous amène à :

Avec :  $s_y = s_0 \cdot h(x)$

Limite de détection en signal net (S= y-b)  $L_D = t_{\alpha,v}|_{\mu_0=0} \cdot \sqrt{s_b^2 + s_0^2} + t_{\beta,v}|_{\mu_0=L_D} \cdot \sqrt{s_b^2 + s_0^2 \cdot h^2\left(\frac{L_D}{a}\right)}$  (2.8)

Limite de quantification en signal net (S= y-b)  $L_Q = k_Q \cdot s_Q = k_Q \cdot \sqrt{s_b^2 + s_0^2 \cdot h^2\left(\frac{L_Q}{a}\right)}$  (2.9)

$t_{\alpha,v}|_{\mu_0=0}$  et  $t_{\beta,v}|_{\mu_0=L_D}$  sont égaux si les risques sont pris équivalents et que les variances dont ils sont les coefficients ont été obtenues sur le même jeu de données. Pour la suite, nous avons considéré des risques  $\alpha$  (risque de faux positif) =  $\beta$  (risque de faux négatif) = 5 %. Ces risques sont dans ce cas unilatéraux. La table de Student donne pour  $v = 23$  (n-2), une valeur t de 1,714. Les limites exprimées en concentration s'obtiennent en divisant les limites en signal net par la pente de la droite d'étalonnage.

Selon l'expression de  $h(x)$ , les limites peuvent être exprimées analytiquement ou nécessiter une recherche itérative de la valeur, qui peut se faire par un solveur tel que celui d'Excel.

Pour qu'un signal soit quantifiable, il faut que le  $CV_S$  correspondant soit inférieur au CV de la limite de quantification

$$\frac{1}{k_Q} = \frac{\sqrt{s_b^2 + s_0^2 \cdot h^2\left(\frac{L_Q}{a}\right)}}{L_Q} = CV_{L_Q} \geq CV_S = \sqrt{\frac{(s_b^2 + s_0^2 \cdot h^2(x))}{a^2 \cdot x^2}} = \frac{s_S}{S} \tag{2.10}$$

Contrairement au cas homoscédastique, où il existe forcément une limite de quantification, avec  $h(x)=x$  ou  $h(x)=1+\mu \cdot x$ , il existe une valeur minimale du coefficient de variation :

$$\lim_{x \rightarrow 0} (CV_S) = \lim_{x \rightarrow 0} \left( \sqrt{\frac{(s_b^2 + s_0^2 \cdot h^2)}{a^2 \cdot x^2}} \right) = \infty$$

et pour  $h(x) = x$  :  $\lim_{x \rightarrow \infty} (CV_S) = \lim_{x \rightarrow \infty} \left( \sqrt{\frac{s_b^2}{a^2 \cdot x^2} + \frac{s_0^2}{a^2}} \right) = \frac{s_0}{a}$

pour  $h(x)=1+\mu \cdot x$  :  $\lim_{x \rightarrow \infty} (CV_S) = \lim_{x \rightarrow \infty} \left( \sqrt{\frac{(s_b^2 + s_0^2)}{a^2 \cdot x^2} + \frac{2 \cdot s_0^2 \cdot \mu}{a^2 \cdot x} + \frac{s_0^2}{a^2} \cdot \mu^2} \right) = \frac{s_0}{a} \cdot \mu$

Selon les valeurs obtenues pour  $s_0$  ou  $s_0 \cdot \mu$  et  $a$ , il arrive que  $CV_S$  ne puisse jamais être inférieur à  $CV_Q$  (Figure II.18).

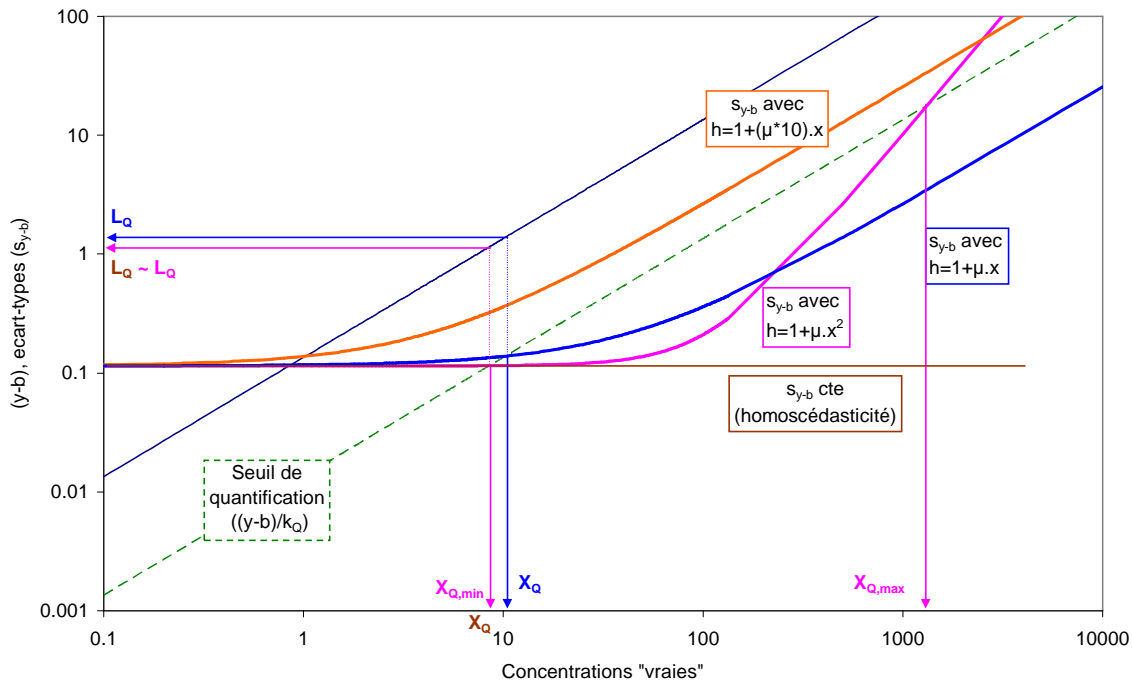


Figure II.18 Détermination des limites de quantification pour différentes fonctions d'évolution des écart-types de la mesure avec la concentration

Dans le cas de fonction  $h(x)$  quadratique, il est possible d'obtenir deux limites de quantification, l'une, classique, fournissant une valeur minimale, l'autre correspondant à une valeur à ne pas dépasser. En effet, avec une fonction quadratique, l'erreur finit toujours par augmenter plus rapidement que la concentration. Si cette limite est atteinte dans le domaine d'étalonnage, elle ne doit pas être dépassée. Si elle est atteinte au-delà du domaine, c'est la concentration maximale du domaine d'étalonnage qui tient lieu de limite de quantification supérieure.

Il faut noter que, dans le cas linéaire comme dans le cas quadratique, il peut arriver de ne jamais trouver de limite de quantification pour le critère  $k_Q$  imposé. Une solution peut consister alors à s'interroger sur l'erreur tolérée.

$$\text{si } \frac{S}{s_S} \leq k_Q \text{ alors comme l'intervalle de confiance est donné par } S \pm t_{\alpha/2, v} \cdot s_S \quad (2.11)$$

$$\text{il vient } \text{Err}_{\max} (\%) = \frac{t_{\alpha/2, v} \cdot S}{k_Q \cdot S} \cdot 100 = t_{\alpha/2, v} \cdot \frac{1}{k_Q} \cdot 100$$

où  $t_{\alpha/2,v}$  est la variable de Student correspondant à un intervalle bilatéral de risque  $\alpha$ , avec  $v$  degrés de liberté, avec  $\alpha = 5 \%$  et  $v = 23$ ,  $t_{\alpha/2,v} = 2,069$ . En prenant  $k_Q=10$ , cela revient à accepter au maximum une erreur de 20,7 % entre la valeur obtenue et la valeur vraie. Avec 5 % de risque que la valeur vraie ne soit pas dans l'intervalle de confiance.

A l'inverse, lorsqu'il s'avère qu'il n'est pas possible de passer sous cette barre, il est tout de même possible de déterminer la limite inférieure de l'erreur maximale tolérée ( $Err_{Min}$ ).

$$Err_{min} (\%) = \text{Min} \left( \frac{t_{\alpha/2,v} \cdot s_s}{S} \right) \cdot 100 \quad (2.12)$$

Par exemple, obtenir un  $Err_{Min}$  de 30 % signifie que l'intervalle de confiance le plus petit qui puisse être obtenu pour un signal net, correspond à une erreur maximale de 30 % entre la valeur obtenue et la valeur vraie pour cet intervalle. Il y a alors plusieurs options :

- augmenter le nombre de degrés de liberté en ajoutant des mesures étalons, dans le cas présent cela n'aura qu'un effet marginal car  $t_{\alpha/2,v}$  a une limite qui est la Loi Normale, pour  $\alpha = 5 \%$  celle-ci vaut 1,96.
- Réduire  $s_s$ , augmenter le nombre de mesures  $y$  contribuera en agissant en particulier sur  $s_b$ .
- Augmenter le risque que la valeur vraie ne soit pas dans l'intervalle : en prenant  $\alpha = 10 \%$ ,  $Err_{Min}$  descend à 24,8 %. Avec  $\alpha = 20 \%$ ,  $Err_{Min}$  vaudra 19,2 % et passe donc sous la barre de 20%. C'est une « fausse » solution, purement mathématique, puisqu'elle transforme simplement une grande incertitude peu risquée (l'auteur est « couvert » mais son information est peu précise) en une incertitude réduite mais plus risquée (l'auteur « bluffe », il donne une information plus précise en apparence, mais augmente le risque que d'autres résultats viennent le contredire).
- Selon l'utilisation faite des résultats obtenus, on peut décider si une telle erreur est admissible, et jusqu'à quel point. Cela revient à choisir une valeur de  $k_Q$  plus faible que la valeur proposée. Ce n'est pas nécessairement un problème en soi. Mais il est absolument indispensable qu'il y ait une information sur ce point jointe aux résultats pour éviter les erreurs d'interprétation. On peut tout à fait imaginer accepter des erreurs allant jusqu'à 30% ou 35%... Cela doit relever d'un

choix conscient. Dans notre exemple, si l'on choisit de tolérer jusqu'à 35%, il sera à nouveau possible de définir une Limite de quantification correspondante.

Nous allons calculer les limites de détection et de quantification de la méthode d'analyse par HPLC-Fluo à l'aide des équations recommandées par l'IUPAC (Currie, 1999a). Le calcul de ces limites a été validé empiriquement par Voigtman (2008a, b). La pente de la droite d'étalonnage (A) de la méthode est nécessaire pour calculer les limites en concentration. Nous avons également déterminé ces limites à l'aide du protocole de l'AFNOR.

Le tableau II.17 donne les limites de détection et de quantification en HPLC-Fluo des gammes non extraites et extraites préparées dans l'eau ultra pure et l'eau naturelle.

Tableau II.17 Limites de détection et de quantification en HPLC Fluo des gammes non extraites et extraites préparées dans l'eau ultra pure et naturelle

Molécule	Détermination	Gamme non extraite ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ )		Gamme extraite eau ultra pure ( $\text{ng.L}^{-1}$ )		Gamme extraite eau naturelle ( $\text{ng.L}^{-1}$ )	
		$x_D$	$x_Q$	$x_D$	$x_Q$	$x_D$	$x_Q$
Bisphénol A	IUPAC	12,51	37,85	23,60	68,84	32,88	95,92
	AFNOR	5,36	12,07	6,61	19,27	10,65	28,31
Ethinylestradiol (Campagne 1)	IUPAC	15,42	44,99	14,61	42,63	32,95	96,11
	AFNOR	5,82	14,10	1,97	9,82	7,55	25,42
Ethinylestradiol (Campagne 2)	IUPAC	10,06	29,35	15,64	45,63	16,39	47,81
	AFNOR	4,80	10,25	4,49	12,90	2,43	11,98

Une nette différence apparaît entre les limites calculées par la méthode de l'AFNOR et celle de l'IUPAC. Une explication pourrait provenir de quelques différences dans les hypothèses qui conduisent aux équations des limites. Il semble que l'AFNOR ait un approche semblable à celle de l'IUPAC, mais avec une différence majeure. En effet, bien que sa valeur soit quantifiée, le blanc (b) semble être considéré comme l'absence de signal (grandeur assimilable au zéro pour l'IUPAC). Ainsi, ce qui est « inférieur » à b est négligé. Une fois le « domaine de travail » du détecteur ainsi défini, la détermination de la limite de détection est effectuée d'une façon similaire à l'IUPAC, mais comporte une autre différence. Currie (1999a) a défini la valeur critique  $L_C$  (en signal net) selon la probabilité d'un faux positif (détection de signal lorsque  $L = 0$ ) égale à  $\alpha$ . La valeur de  $L_C$  est proportionnelle à  $s_0$ , au facteur  $t_{\alpha, \nu}$  près. La limite de détection  $L_D$  est définie par rapport à la valeur critique, selon la probabilité d'un faux négatif égale à  $\beta$ . Si on prend  $\alpha = \beta$ , la limite de détection vaut deux fois la valeur critique, ces deux grandeurs sont



dissociées. Dans le cas de l'AFNOR,  $Y_C$  et  $Y_D$  (en signal brut) sont confondues et définies selon la probabilité d'un faux positif par rapport à  $b$  (détection de signal lorsque  $Y = b$ ) au risque  $\alpha'$  (Figure II.19). Elles sont donc proportionnelles à  $s_b$  et ajoutées à  $b$ . L'AFNOR s'est possiblement inspirée du « Livre Orange » (Irving *et al.*, 1978) qui recommande l'utilisation de la valeur  $3s_b$  pour le calcul de la limite de détection. Il s'agit en fait de la 1<sup>ère</sup> édition du « Compendium of Analytical Nomenclature » de l'IUPAC qui a vraisemblablement revu ensuite cette définition, présentée dans la troisième édition que nous avons suivie (Inczedy *et al.*, 1997).

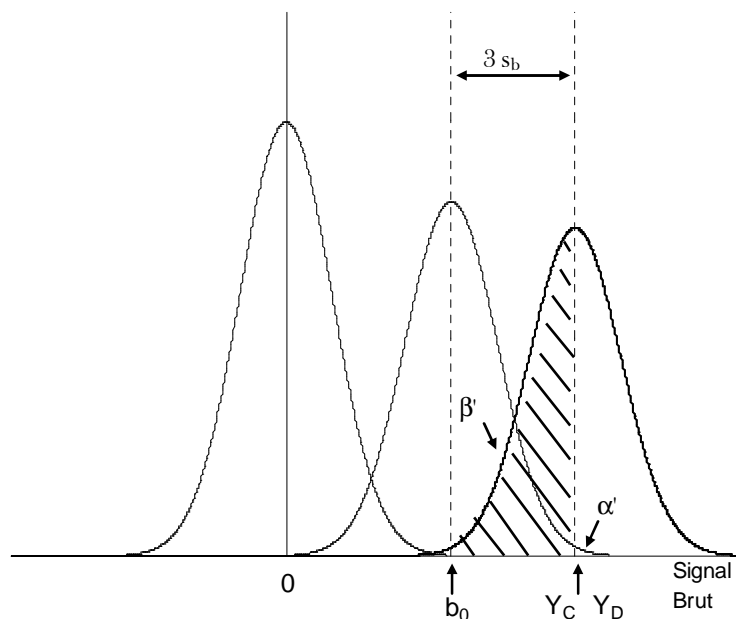


Figure II.19 Représentation de la définition de la limite de quantification

La limite  $Y_D$  ainsi établie correspond, pour 23 degrés de liberté, à une probabilité d'un faux positif de  $\alpha' \approx 0,7 \%$  mais à une probabilité de faux négatif de  $\beta' = 50 \%$ . De plus, l'AFNOR recommande d'utiliser le paramètre  $s_b$ , qui provient de la régression, en tant qu'écart-type du vrai blanc. La détermination « à distance » de cette erreur, plutôt que la mesurer expérimentalement, peut conduire à une valeur sous-estimée, et à des limites faussement basses. Il en va de même pour  $b$ , cette valeur est estimée par extrapolation, elle peut par conséquent être erronée.

Egalement, l'AFNOR semble négliger le domaine qui se trouve entre  $Y = 0$  et  $Y = b$ , puisque la limite de détection est proportionnelle à  $s_b$  uniquement ; la valeur  $Y = 0$  et son erreur  $s_0$  ne sont pas considérées. Pour nos deux campagnes de validation, les valeurs de  $s_0$  étaient systématiquement supérieures (d'un facteur moyen de 10). La formule de l'IUPAC associant les deux erreurs a logiquement donné des limites plus élevées, cependant plus fidèles à la réalité (Tableau II.17).

Le tableau II.18 résume les principales limites de détection et de quantification obtenues. Dans plusieurs cas, l'ajustement de la fonction d'hétéroscédasticité (2.6) n'a pas pu être effectué en raison de valeurs aberrantes. Pour le calcul des limites de détection et de quantification selon l'AFNOR nous avons utilisé les informations ( $b$ ,  $s_b$ ,  $a$ ) issues du meilleur modèle obtenu en régression pondérée, dans chaque cas. Dans le cas de l'analyse HPLC-Fluo, la formule de l'AFNOR sous estimait les limites de détection et de quantification. C'est le cas pour l'analyse par UPLC-MS/MS où les valeurs des limites sont différentes d'un auteur à l'autre et d'une pondération de la variance à l'autre. Ici, l'équation de l'AFNOR n'est pas adaptée car elle néglige le terme  $s_0$  et s'applique au cas homoscédastique. D'ailleurs, plus la limite de détection (ou de quantification) sera loin du zéro, et plus l'écart entre sa valeur calculée par l'équation de l'AFNOR et celle calculée par une équation du domaine hétéroscédastique sera grand.

La détermination des limites de détection et de quantification à l'aide du rapport signal sur bruit (S/N) est réalisée directement sur les chromatogrammes. Une estimation locale -cette fois- du bruit  $N$  est effectuée avant et/ou après le pic chromatographique. Il semble que cette méthode aussi se soit inspirée de la 1<sup>ère</sup> édition du « Livre Orange » (Irving *et al.*, 1978). En effet, le bruit représente  $s_b$  déterminé expérimentalement et la limite de détection, en signal net, est égale à  $3s_b$ , d'où le ratio  $S/N = 3$ . Le ratio  $S/N = 10$ , pour la limite de quantification, est déterminé de la même façon. Cependant, les valeurs des limites sont inférieures à celles calculées à l'aide des équations incluant la pondération. De la même façon que pour les équations de l'AFNOR, cette méthode néglige  $s_0$  et suppose l'homoscédasticité de la variance. Elle minore donc les véritables limites des méthodes d'analyse.

Le calcul des limites à l'aide des équations 2.8 et 2.9 donne des résultats différents de celui effectué par les méthodes de l'AFNOR et S/N. En effet, dans ce cas l'erreur  $s_0$  est prise en compte et il a été montré pour la méthode HPLC-Fluo que la négliger pouvait induire une diminution importante de la valeur des limites calculées.

Pour le cas  $h=1$ , les paramètres des droites d'étalonnage ont été calculés par régression non pondérée. Les valeurs des limites de détection et de quantification données dans le tableau II.18 peuvent être comparées à celles du tableau II.17, puisqu'elles ont été calculées de la même façon. D'une manière générale, les limites de la méthode HPLC-Fluo sont inférieures à celles de la méthode UPLC-MS/MS. Cette observation n'est pas étonnante compte tenu de la régression non adaptée à la variation de l'erreur du signal. En effet, l'erreur à chaque niveau de concentration est considérée avec le même poids. Lors de la régression, l'erreur importante à

haute concentration se répercute sur l'erreur à basse concentration, conduisant probablement à une estimation de l'erreur du blanc  $s_b$  majorée.

Tableau II.18 Limites de détection et de quantification en UPLC MS/MS des gammes non extraites et extraites préparées dans l'eau ultra pure et naturelle pour différents modèles d'hétéroscédasticité (en bleu le meilleur modèle)

Bisphénol A												
	Non extrait intra jour ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ )			Non extrait ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ )			Extrait EUP ( $\text{ng.L}^{-1}$ )			Extrait Eau nat. ( $\text{ng.L}^{-1}$ )		
	$X_D$	$X_{Q,Min}$	$X_{Q,max}$	$X_D$	$X_{Q,Min}$	$X_{Q,max}$	$X_D$	$X_{Q,Min}$	$X_{Q,max}$	$X_D$	$X_{Q,Min}$	$X_{Q,max}$
AFNOR	1,59	3,07	-	4,15	8,71	-	4,25	10,08	-	4,70	11,01	-
S/N	0,49	1,63	-	0,46	1,54	-	0,79	2,62	-	1,95	6,50	-
h=1	21,69	63,27	> 200	16,09	46,94	> 200	24,39	71,14	> 200	34,82	101,6	> 200
h=x <sup>0.5</sup>	2,61	32,53	> 200	<b>3,89</b>	<b>57,15</b>	<b>&gt; 200</b>	<b>5,58</b>	<b>93,40</b>	<b>&gt; 200</b>	<b>6,27</b>	<b>109,0</b>	<b>&gt; 200</b>
h=x	0,63	2,48	> 200	3,42	$Err_{Min}$ 58,8%		2,57	$Err_{Min}$ 48,7%		2,91	$Err_{Min}$ 53%	
h= mod. 2.6	<b>0,72</b>	<b>3,20</b>	<b>&gt; 200</b>									
Ethinylestradiol (Campagne 1)												
	Non extrait intra jour ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ )			Non extrait ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ )			Extrait EUP ( $\text{ng.L}^{-1}$ )			Extrait Eau nat. ( $\text{ng.L}^{-1}$ )		
	$X_D$	$X_{Q,Min}$	$X_{Q,max}$	$X_D$	$X_{Q,Min}$	$X_{Q,max}$	$X_D$	$X_{Q,Min}$	$X_{Q,max}$	$X_D$	$X_{Q,Min}$	$X_{Q,max}$
AFNOR	1,49	4,27	-	1,48	6,57	-	2,47	7,04	-	1,77	6,31	-
S/N	2,32	7,71	-	5,26	17,53	-	1,78	5,94	-	4,84	16,12	-
h=1	21,23	61,94	> 200	22,30	65,05	> 200	29,43	85,85	> 200	33,46	97,61	> 200
h=x <sup>0.5</sup>	2,55	31,55	> 200	<b>4,05</b>	<b>60,41</b>	<b>&gt; 200</b>	4,73	74,76	> 200	5,07	82,18	> 200
h=x	0,88	7,09	> 200	1,23	$Err_{Min}$ 26,6%		1,85	$Err_{Min}$ 37,7%		1,49	$Err_{Min}$ 31,5%	
h= mod. 2.6	<b>2,98</b>	<b>10,35</b>	<b>&gt; 200</b>				<b>5,45</b>	<b>77,99</b>	<b>&gt; 200</b>	<b>4,97</b>	<b>62,80</b>	<b>&gt; 200</b>
			<b>(218)</b>									<b>(1145)</b>
Ethinylestradiol (Campagne 2)												
	Non extrait intra jour ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ )			Non extrait ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ )			Extrait EUP ( $\text{ng.L}^{-1}$ )			Extrait Eau nat. ( $\text{ng.L}^{-1}$ )		
	$X_{Q,Min}$	$X_{Q,max}$	$X_D$	$X_{Q,Min}$	$X_{Q,Min}$	$X_{Q,max}$	$X_D$	$X_{Q,Min}$	$X_{Q,Min}$	$X_{Q,max}$	$X_D$	$X_{Q,Min}$
AFNOR	-	-	-	1,44	3,78	-	3,81	8,96	-	4,92	12,56	-
S/N	-	-	-	1,05	3,51	-	1,39	4,62	-	4,50	14,99	-
h=1	-	-	-	17,51	51,11	> 200	28,01	81,74	> 200	53,81	157,0	> 200
h=x <sup>0.5</sup>	-	-	-	2,68	33,81	> 200	<b>4,64</b>	<b>72,84</b>	<b>&gt; 200</b>	<b>8,41</b>	<b>159,5</b>	<b>&gt; 200</b>
h=x	-	-	-	1,20	$Err_{Min}$ 26,0%		1,67	$Err_{Min}$ 34,7%		1,82	$Err_{Min}$ 37,3%	
h= mod. 2.6	-	-	-	<b>1,19</b>	<b>25,37</b>	<b>&gt;200</b>	9,31	79,58	>200	4,12	$Err_{Min}$ 29,4%	

Dans les cas où l'évolution de la variance en fonction de la concentration est prise en compte, la diminution importante des limites de détection est due à l'effet de la pondération dans la régression sur la valeur de  $s_b$ . Les différentes régressions linéaires pondérées ont permis de l'estimer de façon plus juste, cette valeur est plus faible que dans le cas de la régression linéaire ordinaire des mêmes données ( $w = 1$ ). Les différences constatées entre les fonctions  $h = x^{0.5}$  et  $h = x$  pour la valeur des limites  $x_D$  proviennent en partie de la valeur  $s_b$  qui est plus faible dans le cas de la fonction  $h = x$ . Ceci provient de la régression qui accorde encore plus d'importance aux variances à basse concentration que le modèle  $h = x^{0.5}$ . La valeur de  $x_D$  plus importante pour le modèle (2.6), provient de la fonction d'hétéroscédasticité qui fait tendre  $s_y$  vers  $s_0$  quand  $x$  tend vers zéro.

L'analyse globale des limites de détection montre des meilleurs résultats pour les gammes intra jour. Cette observation n'est pas étonnante, les paramètres de régression ont été calculés ici à l'aide d'une seule gamme d'étalonnage injectée cinq fois, ce qui reflète uniquement la répétabilité de l'injection, l'ionisation et de la détection. La répétabilité liée à la préparation n'est pas incluse, et les limites calculées pour cette gamme ne peuvent être prises en tant que références d'une méthode d'analyse d'inconnus, où la préparation d'une nouvelle gamme d'étalonnage serait effectuée.

Dans le tableau II.18, pour les gammes d'étalonnage non extraite et extraites préparées dans l'eau ultra pure et l'eau naturelle, les meilleurs résultats sont notés en gras italique. On note des limites de détection inférieures à  $5 \mu\text{g.L}^{-1}$  pour la gamme non extraite et des limites inférieures à  $6 \text{ ng.L}^{-1}$  et  $9 \text{ ng.L}^{-1}$  pour les gammes extraites préparées dans l'eau ultra pure et l'eau naturelle, respectivement. Le traitement statistique de nos résultats expérimentaux montre que la fonction  $h = x^{0.5}$  permet d'obtenir les meilleurs résultats. Cependant, en raison de valeurs aberrantes, nous ne disposons pas de la totalité des calculs de limite pour la fonction d'hétéroscédasticité (2.6). Ainsi, parmi les trois fonctions d'hétéroscédasticité testées, nous avons sélectionné le modèle (2.6) pour deux raisons :

- les résultats obtenus sur le même appareil ont montré que l'évolution de l'écart-type de l'UPLC-MS/MS se fait avec un degré proche de 2 (Figure II.15), et
- l'ajout d'un terme constant dans l'équation  $h(x)$  permet de faire tendre  $s_y$  vers une limite non nulle lorsque  $x$  tend vers zéro, ce qui à notre sens reflète davantage la réalité.

En définitive, il s'avère que les limites de détection de la méthode d'analyse par HPLC-Fluo sont entre 2 et 10 fois plus élevées que celles données par l'UPLC-MS/MS. Cette étude

statistique poussée confirme notre choix pour l'analyse d'échantillons provenant des manipulations d'équilibre et de cinétique d'adsorption à basse concentration. La limite de quantification représente la concentration minimale (ou maximale dans le cas d'une limite supérieure), pour laquelle le signal obtenu est au moins dix fois supérieur à son écart-type. Dans notre cas, cela impliquait une erreur maximale, calculée à l'aide de l'intervalle de confiance, de 20,7 %. Pour l'UPLC-MS/MS, certains cas ont présenté une limite supérieure de quantification, tandis que d'autres n'ont pas permis le calcul de la limite inférieure, du fait d'une erreur minimale supérieure à cette erreur maximale. Abaisser la limite de quantification signifie augmenter l'incertitude de la mesure. Cependant l'analyse statistique nous permet de savoir quelle serait l'erreur sur cette nouvelle limite.

#### IV.1.5. INTERVALLES DE CONFIANCE SUR LA VALEUR ESTIMÉE

##### IV.1.5.1. Développement des formules des intervalles de confiance pour les deux méthodes d'analyse

L'intervalle de confiance sur la valeur estimée représente l'erreur faite sur la concentration mesurée d'un échantillon inconnu  $x_c$ . Le calcul des intervalles de confiance d'une méthode d'analyse s'effectue de la même façon que la dispersion du signal du détecteur soit hétéroscédastique ou homoscédastique. La formule générale fait intervenir le poids choisi pour corriger (ou non) l'effet de la variance du signal sur la régression.

Soit une réponse brute d'un échantillon inconnu  $y^*$

$$x_c = \frac{y^* - b}{a} \quad (2.13)$$

$$s_{x_c}^2 = \frac{1}{a^2} \left[ \text{var}(y^*) + s_b^2 + x_c^2 \cdot s_a^2 + 2 \cdot x_c \cdot \text{cov}(b, a) \right] \quad (2.14)$$

Soit en remplaçant la variance de  $y^*$  par son expression dans le cas de  $m$  répétitions de l'intégralité de la procédure de préparation de l'échantillon :

$$s_{x_c}^2 = \frac{1}{a^2} \left[ \frac{s_0^2 \cdot h^2(x_c)}{m} + s_b^2 + x_c^2 \cdot s_a^2 + 2 \cdot x_c \cdot \text{cov}(b, a) \right] \quad (2.15)$$

Qui dans le cas homoscédastique (HPLC-Fluo) donne la formule de l'intervalle de confiance recommandée par l'IUPAC (Incedy *et al.*, 1997).

$$s_{x_c}^2 = \frac{s_\varepsilon^2}{a^2} \left[ \frac{1}{m} + \frac{1}{n} + \left( \frac{(x_c - \bar{x})^2}{\sum x_i^2 - \sum x_i \cdot \bar{x}} \right) \right] \quad (2.16)$$

L'intervalle de confiance est défini par :

$$x_c \pm t_{\alpha/2, v} \cdot s_{x_c} \quad (2.17)$$

Avec  $t_{\alpha/2, v}$  la variable de Student correspondant à un intervalle bilatéral avec  $v$  degrés de liberté ( $v = (n-2)+(m-1)$ ) et un risque  $\alpha$ .

Lorsqu'il ne s'agit que de répétitions de l'injection, la variance de  $y^*$  sera plus élevée car l'effet résultant de la moyenne ne porte que sur la variance liée à l'injection. En supposant une indépendance des deux phénomènes :

$$\text{var}(y^*) = s_p^2 + \frac{s_I^2}{m} \quad (2.18)$$

$$\text{Sachant que } s_0^2 \cdot h^2(x_c) = s_p^2 + s_I^2$$

Il s'avèrera nécessaire de déterminer spécifiquement la variance de l'injection et son évolution en fonction de la concentration.

Une autre forme de présentation est de définir l'erreur maximale probable entre la valeur calculée et la valeur vraie de l'échantillon inconnu.

$$\text{Err}(\%) = \frac{t_{\alpha/2, v} \cdot s_{x_c}}{x_c} \cdot 100 \quad (2.19)$$

Dans le cas homoscédastique, l'intervalle de confiance varie en général peu sur la gamme d'étalonnage. Il est alors commode d'exprimer cet intervalle en unité de concentration qu'il suffit d'ajouter ou enlever à la valeur indiquée, quelle qu'elle soit. Err diminue grossièrement inversement avec  $x_c$ .

Dans le cas hétéroscédastique, la valeur doit être recalculée pour chaque valeur de  $x_c$ . Il est alors plus facile, parfois, de travailler avec Err, car c'est une indication directe de l'ampleur de l'incertitude. De plus, l'évolution de Err est moins prononcée que celle de l'intervalle de confiance, en particulier lorsque l'écart-type de  $y$  varie linéairement avec  $x_c$ .

#### IV.1.5.2. Calcul des intervalles de confiances

##### IV.1.5.2.1. Intervalles de confiance de l'HPLC-Fluo

La formule de l'intervalle de confiance sur la valeur estimée pour la méthode d'analyse HPLC-Fluo a été utilisée pour déterminer l'erreur sur les échantillons inconnus non extraits, et extraits préparés dans l'eau ultra pure et l'eau naturelle. La valeur calculée représente la valeur moyenne de la demi-amplitude de l'intervalle de confiance, calculée pour les cinq niveaux de concentration et les cinq réplicats des gammes d'étalonnage. Cette valeur affiche, dans le domaine homoscedastique, une faible variation d'une des 25 solutions étalons à l'autre (RSD = 2 %). Ainsi, le tableau II.19 montre la valeur moyenne de la demi-amplitude de l'intervalle de confiance pour le dosage du bisphénol A et de l'éthinylestradiol, ainsi que l'écart-type relatif.

Tableau II.19 Demi-amplitudes moyennes des intervalles de confiance de la méthode d'analyse par HPLC-Fluo des gammes non extraite et extraites préparées dans l'eau ultra pure et naturelle

Molécule	Demi-amplitude moyenne de l'intervalle de confiance (% RSD)		
	Gamme non extraite ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ )	Gamme extraite eau ultra pure ( $\text{ng.L}^{-1}$ )	Gamme extraite eau naturelle ( $\text{ng.L}^{-1}$ )
Bisphénol A	8,9 (2)	13,7 (2)	19,1 (2)
Ethinylestradiol (C1)	7,3 (2)	13,7 (2)	19,3 (2)
Ethinylestradiol (C2)	5,9 (2)	9,1 (2)	10,3 (2)

Les résultats du tableau II.19 montrent un intervalle de confiance similaire pour les deux molécules, qui croît lorsque l'échantillon est extrait et qui croît d'autant plus lorsque c'est un échantillon d'eau naturelle. Compte tenu du fait que la valeur indiquée dans le tableau est relativement constante sur toute la gamme de l'étalonnage, nous pouvons déduire que l'erreur sur la concentration estimée (Err) d'un échantillon d'eau naturelle extrait, par exemple, variera de  $\pm 400$  à  $\pm 10$  %, pour une gamme allant de 5 à 200  $\text{ng.L}^{-1}$ .

##### II.1.5.2.2. Intervalles de confiance de l'UPLC-MS/MS

Nous avons ensuite déterminé les intervalles de confiance pour la méthode UPLC-MS/MS, et représenté dans les figures suivantes.

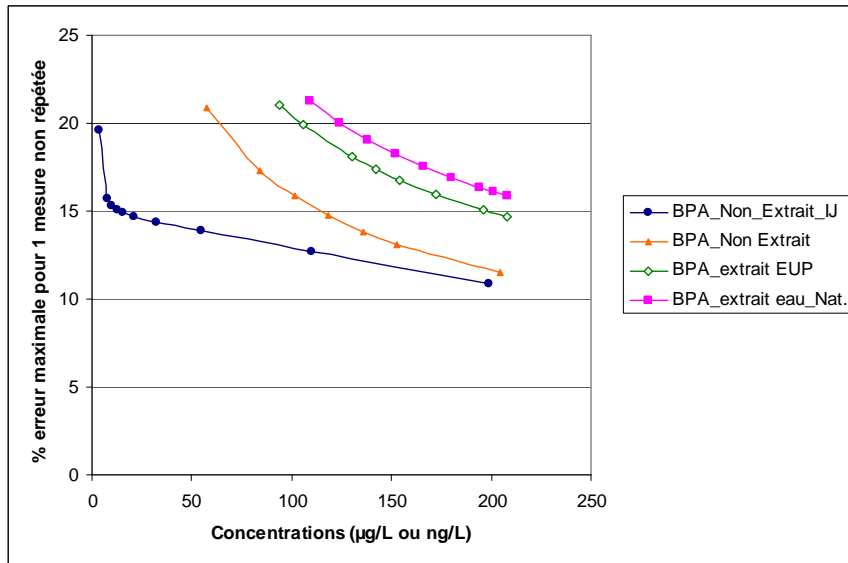


Figure II.20 Représentation des erreurs maximales de la mesure d'un échantillon inconnu de bisphénol A

Les figures II.20 et II.21 montrent l'évolution de l'erreur maximale d'un échantillon inconnu sur un domaine qui commence à  $x_Q$  de chaque gamme étalon, dont l'erreur maximale est de 20,7 %. En d'autres termes, les courbes représentent pour chaque composé et type d'échantillon l'erreur relative, sachant qu'elle sera au maximum égale à 20,7 %. La signification de cette valeur a déjà été expliquée dans ce chapitre (§ IV.1.4.1). On pourra élargir le domaine de ces courbes si l'on accepte une erreur maximum supérieure.

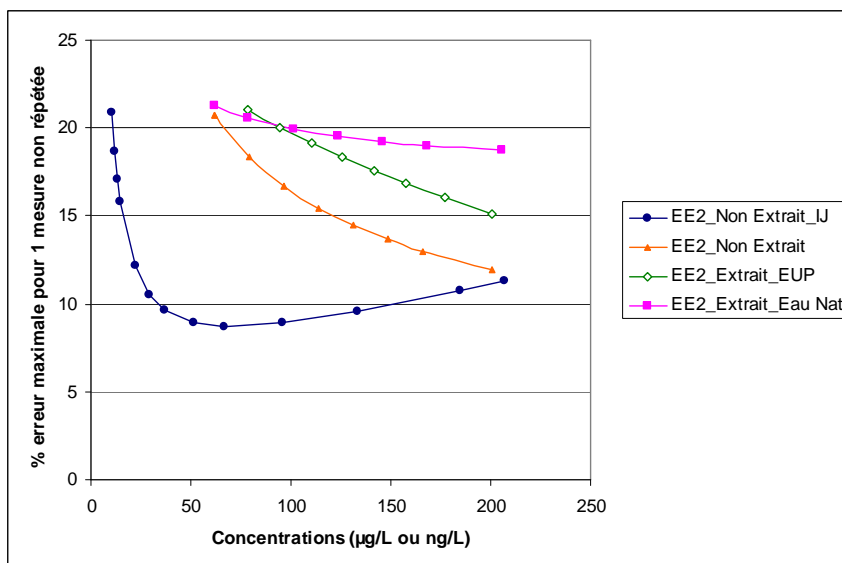


Figure II.21 Représentation des erreurs maximales de la mesure d'un échantillon inconnu d'éthinylestradiol



#### IV.1.6. CONCLUSION

La linéarité et la justesse des deux méthodes d'analyse ont été validées selon le protocole de l'AFNOR. La répétabilité inter jour a été évaluée en s'inspirant du même protocole. Celle-ci serait validée pour chaque gamme étalon, sur les deux appareils à condition d'inclure la pondération dans l'évaluation de la stabilité de la répétabilité des méthodes UPLC-MS/MS. Adapter ce test à un appareil dont la variance obéit à une loi hétéroscédastique pourrait être de vérifier la stabilité dans le temps de cette hétéroscédasticité. L'étude a également montré des rendements d'extraction d'environ 95 % pour l'éthinylestradiol et 100 % pour le bisphénol A, avec des valeurs de RSD satisfaisantes, quel que soit le type d'eau testée.

La différence dans le comportement de la variance des deux appareils a conduit au calcul des limites de détection et de quantification, et des intervalles de confiance des deux méthodes de deux façons différentes. L'étude statistique poussée a permis de déterminer une fonction d'évolution de l'écart-type du signal du spectromètre de masse en fonction de la concentration du soluté. Parmi les différentes expressions testées, la fonction quadratique définie par Voigtman (2008c) est la plus adaptée (Equation 2.6). Les résultats ont montré de meilleures limites de détection pour la méthode d'analyse par UPLC-MS/MS quelle que soit la gamme étalon considérée, ce qui confirme notre choix pour l'analyse des traces de composés. Les limites de quantification correspondent dans nos conditions à une erreur de 20,7 %, les valeurs des limites calculées à l'aide des équations de l'IUPAC sont élevées mais plus réalistes que celles fournies par l'AFNOR ou la méthode qui emploie le ratio signal sur bruit. Il est possible d'abaisser ces limites si on accepte une erreur plus importante. Enfin, le calcul des intervalles de confiance nous a donné la valeur de l'erreur sur la concentration des composés cibles estimée par les deux méthodes d'analyse.

Les linéarité, justesse et répétabilité de l'analyse de l'éthinylestradiol par HPLC-Fluo et UPLC-MS/MS lors des deux campagnes ont été validées, cependant il existe une différence dans les limites de quantification et intervalles de confiance. Des conditions opératoires variables telles que l'état d'encrassement des appareils ou les impuretés présentes dans les solvants peuvent être à l'origine d'une variation plus importante du signal, qui se répercute sur le calcul des limites et intervalles de confiance. Pour une estimation plus juste, plusieurs études de validation espacées dans le temps peuvent être effectuées afin d'obtenir des valeurs moyennes de ces paramètres.

## V. ETUDE DES EFFETS DE MATRICE

### V.1. INTRODUCTION

Lors de l'étude d'adsorption sur charbon actif, des analyses d'échantillons d'eau ultra pure et naturelle seront effectuées. L'eau naturelle constitue une matrice beaucoup plus complexe que l'eau ultra pure et, bien qu'ils subissent une phase d'extraction sur phase solide, les échantillons extraits d'eau naturelle contiennent des interférents susceptibles de biaiser les résultats d'analyse. Une étude des résultats obtenus lors des validations a donc été réalisée afin d'évaluer les effets de la matrice de l'échantillon sur les deux techniques d'analyse et dans quelle mesure la méthode de l'étalonnage interne permet de les compenser. L'étalon interne choisi est l'estrone (E1), un analogue structural de l'éthinylestradiol.

### V.2. DETERMINATION DES RENDEMENTS

Notre étude des effets de matrice repose sur la comparaison de rendements d'une solution étalon de la gamme extraite. Selon le mode de détection, il s'agit du ratio du signal ou de la réponse obtenu(e) d'une solution étalon de la gamme extraite et du signal ou réponse de la solution étalon associée de la gamme non extraite.

Dans cette partie, nous allons démontrer que les rendements calculés à partir des données expérimentales peuvent être décomposés en un rendement d'extraction et un coefficient représentant l'effet de matrice ou sa compensation, selon le type de données considérées. Nous allons également montrer quelles approximations doivent être effectuées lors du calcul des rendements moyens à l'aide des pentes des droites d'étalonnage.

Pour chaque solution étalon extraite, notée  $i$ , le rendement du signal (RS) ou de la réponse (RR) peut être défini respectivement par :

$$RS_i (\%) = \frac{1}{D_i} \times \frac{A_{GE,i}}{A_{GNE,i}} \times 100 \quad (2.20)$$

$$RR_i (\%) = \frac{1}{D_i} \times \frac{R_{GE,i}}{R_{GNE,i}} \times 100 \quad (2.21)$$

où  $D_i = \frac{FC_i}{FD_i}$  et GE pour “gamme extraite” GNE pour “gamme non-extraite”, R défini par

la relation 2.1 et A l'aire du signal.

$$\text{En développant les réponses, } RR_i (\%) = \frac{1}{D_i} \times \frac{A_{GE,i}}{A_{GNE,i}} \times \frac{C_{GE,EI,i}}{C_{GNE,EI,i}} \times \frac{A_{GNE,EI,i}}{A_{GE,EI,i}} \times 100$$

Le ratio des concentrations théoriques de l'EI dans les solutions extraite et non extraite est aussi égal à  $D_i$ . La simplification donne l'équation

$$RR_i (\%) = \frac{1}{D_i} \times \frac{A_{GE,i}}{A_{GNE,i}} \times D_i \times \frac{A_{GNE,EI,i}}{A_{GE,EI,i}} \times 100 = \frac{RS_i}{RS_{EI,i}} \times 100 \quad (2.22)$$

Le rendement du signal (RS), tel qu'il est obtenu des détecteurs, peut être défini par le produit du rendement d'extraction (RE) et d'un coefficient représentant les effets de matrice (EM) qui ont lieu lors de la détection (Equation 2.23)

$$RS_i (\%) = RE_i (\%) \times EM_i \quad (2.23)$$

Selon les équations 2.22 et 2.23, RR peut être développé

$$RR_i (\%) = \frac{RE_i (\%) \times EM_i}{RE_{EI,i} (\%) \times EM_{EI,i}} \times 100$$

qui peut être écrit sous la forme

$$RR_i (\%) = RE_i (\%) \times CC_i \quad (2.24)$$

où 
$$CC_i = \frac{EM_i}{RE_{EI,i} (\%) \times EM_{EI,i}} \times 100$$

Ainsi, le rendement de la réponse calculé à l'aide des données traitées avec les données de l'EI, est composé du rendement d'extraction et d'un coefficient de compensation des effets de matrice (CC) (Equation 2.24). Ce coefficient, qui est le ratio des effets de matrice sur le composé cible et du rendement du signal de l'EI ( $RS_{EI}$ ), représente la compensation de la variation du signal apportée par la méthode de l'étalonnage interne.

Le rendement moyen peut être calculé de deux façons : la moyenne arithmétique de tous les rendements individuels (sur la gamme de l'étalonnage) et une approximation en utilisant les pentes des droites d'étalonnage des gammes extraite et non extraite.

Une bonne estimation du signal (A) peut être obtenue à partir de la droite d'étalonnage. Les paramètres  $a_{GE}$  et  $b_{GE}$  sont respectivement la pente et l'ordonnée à l'origine de la droite d'étalonnage de la gamme extraite, et  $a_{GNE}$  et  $b_{GNE}$  sont respectivement ceux de la droite d'étalonnage de la gamme non extraite. Ainsi, l'équation 2.20 devient,

$$RS_i (\%) \approx \frac{1}{D_i} \times \frac{b_{GE} + a_{GE} \times C_{GE,i}}{b_{GNE} + a_{GNE} \times C_{GNE,i}} \times 100$$

Si les ordonnées à l'origine des deux droites d'étalonnage ( $b_{GE}$  et  $b_{GNE}$ ) sont proches de 0, une approximation peut exprimer  $RS_i$  :

$$RS_i (\%) \approx \frac{1}{D_i} \times \frac{a_{GE} \times C_{ES,EE2,i}}{a_{GNE} \times C_{S,EE2,i}} \times 100 \quad (2.25)$$

Puisque  $C_{GE,i} = D_i \times C_{GNE,i}$ , nous obtenons

$$RS_i (\%) \approx \frac{a_{GE}}{a_{GNE}} \times 100 \quad (2.26)$$

Dans ce cas,  $RS_i$ , le rendement du signal de chaque solution extraite, est égal à une constante. Pour le calcul de la moyenne arithmétique  $\overline{RS}$ , chaque  $RS_i$  individuel peut être

$$\overline{RS} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n RS_i \approx \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \frac{a_{GE}}{a_{GNE}} \times 100 = \frac{a_{GE}}{a_{GNE}} \times 100 \quad \rightarrow \quad \overline{RS} \approx \frac{a_{GE}}{a_{GNE}} \times 100 \quad (2.27)$$

La même démonstration peut être faite lorsque les données considérées sont relatives à la réponse. Dans ce cas, le rendement moyen de la réponse est

$$\overline{RR} \approx \frac{\alpha_{GE}}{\alpha_{GNE}} \times 100 \quad (2.28)$$

où  $\alpha_{GE}$  et  $\alpha_{GNE}$  sont les pentes des droites d'étalonnage des gammes extraite et non extraite, respectivement.

Le rendement déterminé à l'aide des pentes représente un rendement global et est calculé plus rapidement, mais il peut être biaisé si les ordonnées à l'origine des droites d'étalonnage ne

sont pas proches de 0. Dans cette étude, les rendements ont été calculés par les deux méthodes, la moyenne arithmétique s'est avérée plus juste avec nos résultats expérimentaux.

Dans notre étude, **RS** peut être déterminé pour les deux techniques de détection. Le rendement de détection par fluorescence (**RF**), calculé à l'aide des données **HPLC-Fluo** de la validation, est le produit de **RE** et d'un coefficient représentant les effets de matrice qui ont lieu lors de la détection par fluorescence (**EM<sub>F</sub>**) (Equation 2.29), le rendement d'ionisation (**RI**), calculé à l'aide des données **UPLC-MS/MS** de la validation et traitées sans les données de l'**EI**, est le produit de **RE** et d'un coefficient représentant les effets de matrice qui ont lieu lors de l'ionisation (**EM<sub>I</sub>**) (Equation 2.30).

$$\text{RF}(\%) = \text{RE}(\%) \times \text{EM}_F \quad (2.29)$$

$$\text{RI}(\%) = \text{RE}(\%) \times \text{EM}_I \quad (2.30)$$

### V.3. DETERMINATION DES EFFETS DE MATRICE LA CAMPAGNE 1

#### V.3.1. EFFETS DE MATRICE DE LA METHODE HPLC-FLUO

Pour la détection par fluorescence, les rendements du bisphénol A et de l'éthinylestradiol (Tableau II.9) étaient respectivement d'environ 100 % et 95 % quelque soit le type d'eau dans laquelle la solution extraite a été préparée. Ces résultats signifient que la matière organique naturelle n'a eu aucun effet significatif sur les valeurs de **RE** ou **EM<sub>F</sub>** (Equation 2.29). Par conséquent, il est possible de supposer que le rendement d'extraction sur phase solide des composés cibles était respectivement d'environ 100 % et 95 % et qu'aucun effet de matrice n'a eu lieu lors de la détection par fluorescence. La compensation des effets de matrice ne sera donc pas nécessaire pour l'analyse par **HPLC-Fluo**.

#### V.3.2. SENSIBILITE DE LA METHODE UPLC-MS/MS

Les sensibilités, c'est-à-dire les facteurs de réponse ou pentes des droites d'étalonnage, de l'estrone et des deux composés cibles dans les solutions étalons non extraites et extraites préparées dans l'eau ultra pure et l'eau naturelle ont été déterminées par approximation à partir des aires de pic par ng injecté. Les valeurs obtenues ainsi que leurs ratios et les valeurs de **RSD** correspondantes sont rapportés dans les tableaux II.20 et II.21.

Tableau II.20 Aires de pic moyennes par ng de BPA injecté en HPLC-FD et UPLC-MS/MS et aires de pic moyennes par ng d'EI injecté en UPLC-MS/MS dans les gammes non extraites et extraites dans l'eau ultra pure et l'eau naturelle, et leurs ratios

	Aire de pic moyenne par ng injecté						
	HPLC-FD			UPLC-MS/MS			
	BPA (RSD %) n = 5	RF	BPA (RSD %) n = 5	RI	EI (RSD %) n = 30	RI <sub>EI</sub>	Ratio BPA/EI (RSD %) n = 5
Gamme non extraite	1,52 x 10 <sup>5</sup> (4)	-	1130 (10)	-	1838 (9)	-	0,611 (5)
Gamme extraite Eau ultra pure	1,46 x 10 <sup>5</sup> (10)	97	837 (11)	79	1317 (6)	71	0,644 (13)
Gamme extraite Eau naturelle	1,56 x 10 <sup>5</sup> (5)	102	599 (13)	53	909 (13)	50	0,710 (29)

RF : Rendement de la détection par Fluorescence; RI : Rendement d'ionisation, RI<sub>EI</sub> : Rendement d'ionisation de l'EI  
RF, RI and RI<sub>EI</sub> calculés à l'aide de la moyenne arithmétique des ratios aires de pic GE / aires de pic GNE

Lors de l'analyse par UPLC-MS/MS, l'EI a montré une sensibilité supérieure à celles de l'EE2 et du BPA, puisque ses valeurs d'aire de pic par ng injecté étaient plus importantes. De plus, une valeur d'aire de pic plus faible a été obtenue lorsque l'EI était injecté alors qu'il se trouvait dans une solution étalon extraite préparée dans l'eau ultra pure, donnant un rendement d'ionisation (RI<sub>EI</sub>) de 71 %. Pour la solution étalon préparée dans l'eau naturelle, ce rendement est diminué jusque 50 %. Pour l'EE2 et le BPA, le même phénomène a été observé avec une diminution de RI moins importante pour le BPA. Comme les rendements d'extraction des molécules cibles ont été déduits égaux à environ 100 % et 95 %, cette baisse dans les valeurs des RI montre qu'il y a eu un phénomène de suppression ionique durant l'ionisation du BPA et de l'EE2, un effet de matrice qui diminue l'intensité du signal ( $EM_I < 1$ ) (Equation 2.30).

Tableau II.21 Aires de pic moyennes par ng d'EE2 injecté en HPLC-FD et UPLC-MS/MS et aires de pic moyennes par ng d'EI injecté en UPLC-MS/MS dans les gammes non extraites et extraites dans l'eau ultra pure et l'eau naturelle, et leurs ratios

	Aire de pic moyenne par ng injecté						
	HPLC-FD			UPLC-MS/MS			
	EE2 (RSD %) n = 5	RF	EE2 (RSD %) n = 5	RI	EI (RSD %) n = 30	RI <sub>EI</sub>	Ratio EE2/EI (RSD %) n = 5
Gamme non extraite	2,09 x 10 <sup>5</sup> (7)	-	209 (16)	-	1838 (9)	-	0,109 (15)
Gamme extraite Eau ultra pure	1,70 x 10 <sup>5</sup> (4)	93	140 (16)	65	1317 (6)	71	0,106 (12)
Gamme extraite Eau naturelle	1,78 x 10 <sup>5</sup> (10)	96	93 (20)	48	909 (13)	50	0,108 (11)

RF : Rendement de la détection par Fluorescence; RI : Rendement d'ionisation, RI<sub>EI</sub> : Rendement d'ionisation de l'EI  
RF, RI and RI<sub>EI</sub> calculés à l'aide de la moyenne arithmétique des ratios aires de pic GE / aires de pic GNE

### V.3.3. COMPENSATION DE LA VARIATION DU SIGNAL POUR LES SOLUTIONS ETALONS NON EXTRAITES ET EXTRAITES

Pour les solutions étalons extraites et non extraites, les valeurs de RSD données dans les tableaux II.20 et II.21 sont dues à la variabilité inter jour de la détection et, pour les solutions étalons extraites, à la variabilité inter jour de l'extraction des solutions. Les résultats montrent que la variabilité inter jour est globalement plus faible pour la méthode d'analyse HPLC-Fluo. Etant donné que les échantillons ont été analysés par les deux méthodes, l'augmentation des valeurs de RSD pour l'analyse par UPLC-MS/MS est due à la variabilité du chromatographe et du détecteur. L'étalon interne analytes est utilisé pour corriger ces variations d'intensité du signal. Des valeurs de ratios EE2/EI pour les solutions étalons extraites préparées dans l'eau ultra pure (0,109) et l'eau naturelle (0,106) très proches de celle pour les solutions étalons non extraites (0,108) ont été obtenues. Ceci peut être expliqué par une extraction et un comportement lors de l'ionisation proches, si l'on se réfère à la définition du rendement du signal (Equation 2.23). En revanche, pour le BPA, une légère augmentation de ce ratio pour les solutions étalons extraites a été observée : de 0,606 pour les solutions non extraites à 0,644 et 0,710 pour les solutions étalons extraites préparées dans l'eau ultra pure et l'eau naturelle respectivement. Par conséquent, un rendement d'extraction ou un comportement du BPA dans la source d'ionisation légèrement différent de ceux de l'EI peut être à l'origine de cette augmentation dans le ratio des aires de pic.

L'estrone paraît être légèrement plus apte à corriger les variations de signal pour l'éthinylestradiol que pour le bisphénol A. Cette différence peut être expliquée par la nature de l'étalon interne. En effet, l'estrone est de structure beaucoup plus proche de l'EE2 que du BPA, l'utiliser en tant qu'étalon interne pour le plastifiant peut mener à une compensation des variations du signal incomplète.

### V.3.4. COMPENSATION DES EFFETS DE MATRICE

Le tableau II.9 montre une adéquation entre les rendements obtenus par la méthode HPLC-Fluo et UPLC-MS/MS, uniquement pour l'EE2. En revanche, le BPA présente des différences, des rendements d'environ 100 % ont été obtenus pour l'analyse par HPLC-Fluo tandis que des rendements de 114 % et 115 % ont été obtenus par UPLC-MS/MS pour les solutions étalons extraites eau ultra pure et eau naturelle respectivement.

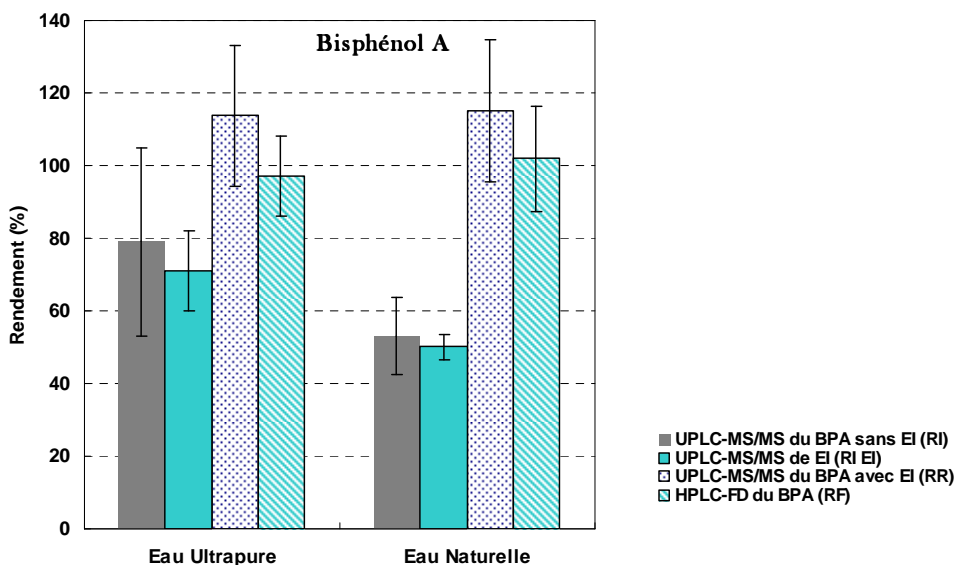


Figure II.22 Rendements et intervalles de confiance pour l'analyse du BPA et de l'EI dans l'eau ultra pure et l'eau naturelle par HPLC-Fluo et UPLC-MS/MS

Ces valeurs sont rapportées dans la figure II.22 pour le BPA et figure II.23 pour l'EE2, avec les rendements des composés cibles analysés par UPLC-MS/MS sans étalonnage interne, les rendements de l'EI, et les valeurs des RSD représentés sous la forme d'intervalles de confiance (à 95 %).

Ces rendements ont été déterminés par la méthode de la moyenne arithmétique. Dans la suite de l'étude, nous discuterons dans un premier temps de la compensation des effets de matrice du BPA, nous reprendrons ensuite le même raisonnement pour étudier les effets de matrice auxquels l'EE2 a été soumis.

Nous avons vu que la méthode HPLC-Fluo n'était pas significativement biaisée par les effets de matrice. Cela signifie un coefficient  $EM_F$  très proche de 1 et que l'on peut déduire le rendement d'extraction des analytes directement des rendements de fluorescence ( $RE = RF$ ) (Equation 2.29). Ainsi, le rendement d'extraction du BPA est d'environ 100 % pour les deux types d'eau. Or, le tableau II.9 montre des rendements de réponse de 114 % et 115 % pour l'eau ultra pure et l'eau naturelle respectivement. Ainsi, selon l'équation 2.24, le coefficient de compensation des effets de matrice (CC) doit être égal à 1,14 et 1,15 pour l'eau ultra pure et l'eau naturelle respectivement. Une valeur de CC supérieure à 1 indique une surcompensation des effets de matrice.



### V.3.5. RENDEMENT D'IONISATION RI

Selon l'équation 2.22, le rendement de réponse du BPA est égal au ratio des rendements d'ionisation du BPA et de l'EI. Sur la figure II.22, la diminution des rendements du signal du BPA et de l'EI dans l'eau ultra pure et l'eau naturelle montre une suppression ionique pour les solutions étalons extraites. Le rendement d'ionisation du BPA de 79 % pour l'eau ultra pure semble indiquer qu'à la suite de l'extraction, la matrice de la solution étalon est plus complexe et engendre une diminution de l'intensité du signal. Cette valeur est à considérer avec prudence puisqu'elle est entachée d'une erreur élevée ; elle contient valeur 100 % dans son intervalle de confiance. Ainsi, des composés de la matrice de l'échantillon seraient élués avec le BPA et créeraient une suppression ionique dans la source d'ionisation du spectromètre de masse. Pour les extraits provenant de solutions préparées dans l'eau ultra pure, il est possible que ces composés soient d'origine exogène, par exemple des composés non volatils provenant de la phase adsorbante. La présence de ce genre de composés et leur rôle dans les effets de matrice ont été évoqués et discuté dans la littérature (Cappiello *et al.*, 2008). De plus, un RI de 53 % pour les solutions étalons extraites préparées dans l'eau naturelle montre une suppression ionique plus importante dans ce type de matrice, probablement due à la matière organique naturelle de l'eau. Dans ce cas, cette valeur est significativement différente de 100 %.

### V.3.6. RENDEMENT D'IONISATION RI<sub>EI</sub> ET COMPENSATION DES EFFETS DE MATRICE

L'ajout de l'étalon interne dans chaque échantillon a pour but de compenser la variabilité de l'ionisation, qui peut être augmentée par les effets de matrice (Matuszewski *et al.*, 2003). Dans la source d'ionisation du spectromètre de masse, l'EI est supposé se comporter de façon proche des analytes et subir des variations d'ionisation similaires. La figure II.22 montre que les valeurs de RI<sub>EI</sub> dans l'eau ultra pure et l'eau naturelle sont légèrement inférieures à celles du BPA (71 % pour l'eau ultra pure et 50 % pour l'eau naturelle). Elle montre également une surcompensation des effets de matrice puisque les rendements de réponse atteignent 114 % et 115 % dans l'eau ultra pure et l'eau naturelle, respectivement. Ces rendements de réponse sont donc supérieurs à 100 % car l'EI, l'élément de référence, est globalement plus affecté que le BPA par l'extraction et/ou les effets de matrice (puisque RI<sub>EI</sub> sont légèrement plus faibles que RI).

Dans le tableau II.20, les augmentations du ratio des aires de pic du BPA et de l'EI des solutions étalons non extraites (0,611) aux solutions extraites (0,644 et 0,710) et les valeurs des rendements d'ionisation des deux espèces indiquent que l'estrone est probablement plus affecté

par la suppression ionique que le BPA. En effet, le rendement d'extraction du BPA reste constant quelque soit le type d'eau. Dans l'hypothèse où l'estrone se comporte de la même façon, l'augmentation du ratio provient d'un coefficient d'effet de matrice plus faible pour l'EI, donnant un coefficient CC supérieur à 1.

L'utilisation de l'estrone en tant qu'étalon interne a montré une légère surcompensation des effets de matrice, et le rendement de réponse du BPA supérieur à 100 % a été attribué à une suppression ionique supérieure pour l'EI. Dans la mesure où le rendement d'extraction RE du BPA est d'environ 100 % et que le rendement du signal de 53 % en eau naturelle devient un rendement de réponse de 115 %, il est possible de conclure que l'estrone compense de façon satisfaisante les effets de matrice et convient en tant qu'étalon interne pour l'analyse du Bisphénol A dans l'eau ultra pure et l'eau naturelle. Enfin, compte tenu du fait que l'EI est de manière relative plus affecté par les effets de matrice que le BPA dans l'eau naturelle que dans l'eau ultra pure (selon les valeurs des ratios 0,644 et 0,710), un rendement de réponse dans l'eau naturelle supérieur à 114 % aurait pu être obtenu. Les erreurs de mesure peuvent être la cause de la valeur de rendement du bisphénol A en eau naturelle proche de celle du rendement en eau ultra pure.

Par ailleurs, la détermination du coefficient de compensation a permis de montrer que le rendement de réponse du BPA supérieur à 100 % n'est pas dû à des effets de matrice qui augmentent le signal. Les résultats ont montré que pour ce composé les effets de matrice se traduisent par une suppression ionique et que c'est le rapport des rendements d'ionisation du BPA et de l'EI qui a conduit à cette augmentation apparente du signal.

### V.3.7. EFFETS DE MATRICE SUR L'ETHINYLESTRADIOL

Le rendement d'extraction de l'EE2 a été montré égal à environ 95 % pour les deux méthodes d'analyse, ce qui signifie que le rendement de réponse RR est égal au rendement de fluorescence RF. Et nous avons vu que le rendement d'extraction des analytes peut être considéré égal au rendement de fluorescence ( $RE = RF$ ). Ainsi, il y a égalité entre RR et RE, ce qui signifie que le coefficient de compensation des effets de matrice est égal à 1. Cette égalité dans les rendements d'extraction obtenus par HPLC-Fluo et UPLC-MS/MS montre une compensation efficace des effets de matrice. La valeur du rendement de réponse de l'EE2 dans l'eau ultra pure légèrement plus faible que son rendement d'extraction (ou de fluorescence) peut être due au fait que le rendement d'ionisation de l'EE2 est plus faible que celui de l'EI (65 % pour RI et 71 % pour  $RI_{EI}$  sur la figure II.23), donnant une valeur de CC inférieure à 1. Cependant, les intervalles de confiance des rendements calculés sont importants dans le cas des

données non pondérées par l'étalon interne, les différences constatées doivent être considérées avec prudence. La compensation efficace des effets de matrice pour l'EE2 peut également être constatée en observant les valeurs des ratios des aires de pic de l'EE2 et de l'EI, dans le tableau II.21. Quel que soit le type d'échantillon et le type d'eau, ce rapport reste constant (environ 0,108). Ceci montre une bonne compensation des variations du signal de l'EE2 par l'EI et présage une compensation efficace des effets de matrice. Ceci peut également signifier que le rendement d'extraction de l'EI est de même stabilité que celui de l'EE2, et ainsi valider l'hypothèse de constance de ce paramètre faite lors de la discussion des effets de matrice sur le BPA.

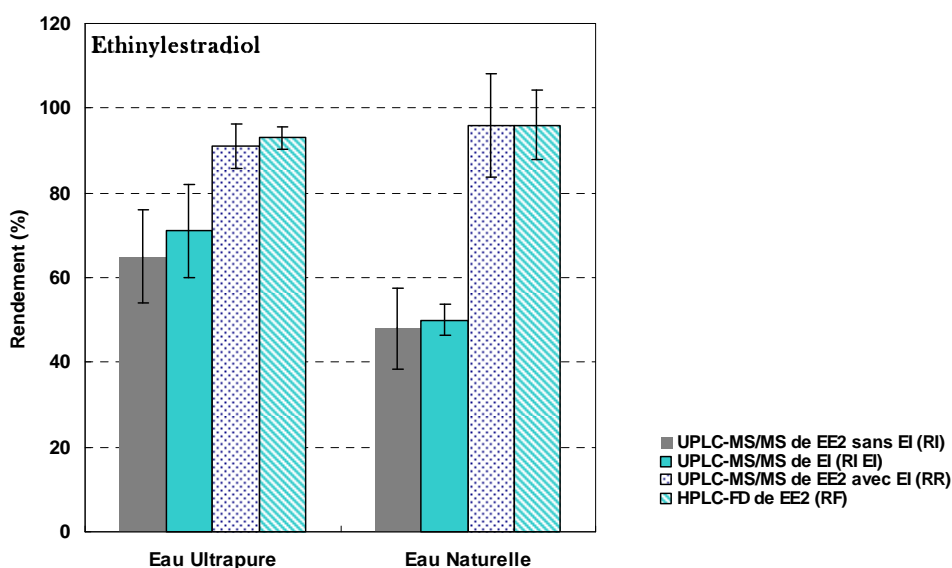


Figure II.23 Rendements et intervalles de confiance pour l'analyse de l'EE2 et de l'EI dans l'eau ultra pure et l'eau naturelle par HPLC-Fluo et UPLC-MS/MS

En définitive, l'estrone a montré un comportement différent du bisphénol A mais est utilisable en tant qu'étalon interne pour l'analyse par UPLC-MS/MS d'échantillons extraits préparés dans l'eau naturelle. Et cette molécule, très proche structuralement de l'hormone de synthèse, s'est logiquement montrée très efficace dans la compensation des effets de matrice.

#### V.4. ETUDE DES EFFETS DE MATRICE DE LA CAMPAGNE 2

L'étude des effets de matrice a également été effectuée lors de la deuxième campagne de validation. Cette étude a été effectuée dans les mêmes conditions que celle précédemment présentée. Comme pour l'étude précédente, l'estrone a été utilisé en tant qu'étalon interne. L'eau

ultra pure et l'eau naturelle utilisées pour cette étude ont la même origine et les mêmes caractéristiques que précédemment. L'étude des effets de matrice a montré une compensation efficace de la suppression ionique observée sur l'EE2. Cependant, contrairement à la première étude une surcompensation a été détectée. La figure II.24 montre des rendements de réponse, obtenus de la méthode UPLC-MS/MS, d'environ 122 % quelque soit le type d'eau testée.

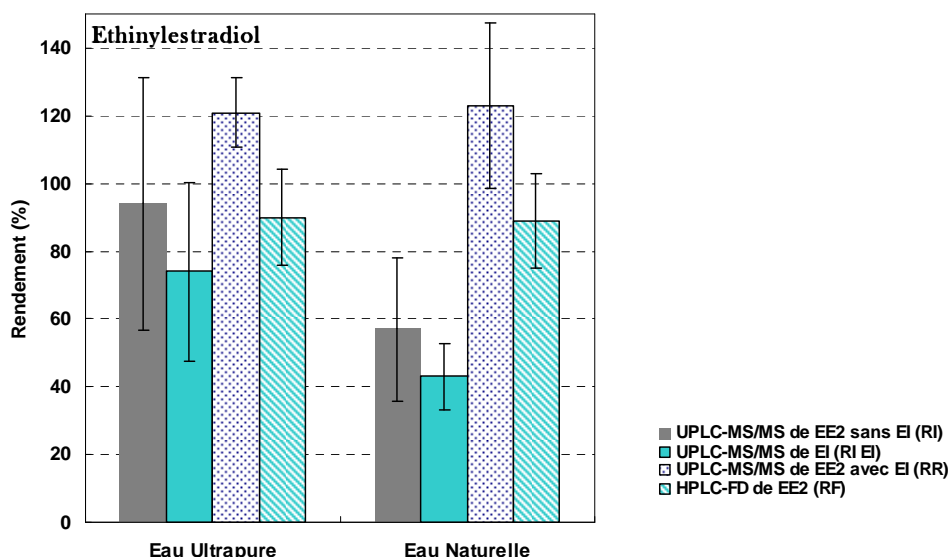


Figure II.24 Rendements et intervalles de confiance pour l'analyse de l'EE2 et de l'EI dans l'eau ultra pure et l'eau naturelle par HPLC-Fluo et UPLC-MS/MS

Lors de la première étude des effets de matrice, la valeur du ratio des aires de pic de l'EE2 et de l'EI analysés par UPLC-MS/MS indiquait une extraction et un comportement dans la source d'ionisation similaire des deux molécules quelque soit le type de solution étalon. Dans ce nouveau cas, l'augmentation de ce ratio pour les solutions extraites (0,137 pour la gamme non extraite et 0,193 et 0,194 pour les gammes extraites EUP et eau naturelle, respectivement) indique une différence dans les rendements d'extraction des deux molécules (Tableau II.23). En effet, pour les deux solutions étalons extraites le ratio des aires de pic EE2/EI est constant, une augmentation de cette valeur pour la gamme extraite eau naturelle aurait été observée s'il y avait eu une différence de comportement à l'ionisation des deux molécules. Ce phénomène a été observé pour le bisphénol A, qui était moins affecté par les effets de matrice que l'EI. La figure II.16 récapitule les différents rendements obtenus des deux appareils. Elle montre des rendements d'extraction de l'EE2 corrects dans l'eau ultra pure et l'eau naturelle à travers les rendements de fluorescence (RF) et les rendements d'ionisation qui illustrent une suppression

ionique inégale pour les deux molécules (RI et RI<sub>EI</sub>). Enfin, la figure II.24 montre la surcompensation des effets de matrice à l'aide des rendements de réponse RR.

La différence dans les rendements d'extraction de l'EE2 et de l'EI est en contradiction avec ce qui a été observé lors de la première étude des effets de matrice. Il est possible que des différences dans les lots de cartouches d'extraction aient entraîné une légère perte d'estrone, plus polaire que l'éthinylestradiol, lors du rinçage de la cartouche.

Tableau II.22 Aires de pic moyennes par ng d'EE2 injecté en HPLC-FD et UPLC-MS/MS et aires de pic moyennes par ng d'EI injecté en UPLC-MS/MS dans les gammes non extraites et extraites dans l'eau ultra pure et l'eau naturelle, et leurs ratios

	Aire de pic moyenne par ng injecté						Ratio EE2/EI (RSD %) n = 5
	HPLC-FD			UPLC-MS/MS			
	EE2 (RSD %) n = 5	RF	EE2 (RSD %) n = 5	RI	EI (RSD %) n = 30	RI <sub>EI</sub>	
	Gamme non extraite	2,17 x 10 <sup>5</sup> (8)	-	482 (26)		3640 (26)	
Gamme extraite Eau ultra pure	1,87 x 10 <sup>5</sup> (4)	90	471 (38)	94	2713 (35)	74	0,194 (22)
Gamme extraite Eau naturelle	1,87 x 10 <sup>5</sup> (6)	89	280 (36)	57	1581 (29)	43	0,193 (17)

RF : Rendement de la détection par Fluorescence; RI : Rendement d'ionisation, RI<sub>EI</sub> : Rendement d'ionisation de l'EI  
RF, RI and RI<sub>EI</sub> calculés à l'aide de la moyenne arithmétique des ratios aires de pic GE / aires de pic GNE

Le tableau II.9 montre des performances similaires à la précédente étude de validation vis-à-vis du rendement d'extraction et de la répétabilité inter jour. Des performances légèrement meilleures ont été obtenues pour la linéarité et les limites de détection et de quantification.

Bien que linéarité, justesse et répétabilité des méthodes d'analyse aient été validées pour les deux études, il existe une différence notable dans les limites de quantification et intervalles de confiance. Des conditions opératoires variables telles que l'état d'encrassement des appareils ou les impuretés présentes dans les solvants peuvent être à l'origine d'une variation plus importante du signal, qui se répercute sur le calcul des limites et intervalles de confiance. Pour une estimation plus juste, plusieurs études de validation espacées dans le temps peuvent être effectuées afin d'obtenir des valeurs moyennes de ces paramètres.

## V.5. DISCUSSION DE L'ÉTUDE DES EFFETS DE MATRICE

La technique d'analyse couplée LC-MS (et LC-MS/MS) est considérée comme une méthode de choix pour la quantification des polluants organiques, aussi bien dans les matrices biologiques (Matuszewski *et al.*, 2003) qu'environnementales (Barcelo et Petrovic, 2007). Les effets de matrice sont fréquemment rencontrés pour ce genre d'échantillon et l'estimation de leur impact sur les performances des méthodes d'analyse est de ce fait devenue courante. Face à la complexité du phénomène, plusieurs méthodologies sont nées, cherchant à réduire ou compenser, évaluer voire expliquer les effets des matrices. Ainsi, Van De Steene et Lambert (2008) ont montré que la technologie UHPLC, grâce à l'augmentation de l'efficacité des pics chromatographiques, permet une meilleure séparation des analytes et des composés interférents qui sont à l'origine des effets de matrice. Ils ont ainsi noté une diminution significative de ce phénomène par rapport à la chromatographie liquide haute performance. Ils ajoutent qu'avec cette nouvelle technologie, l'utilisation d'analogues structuraux en tant qu'étalons internes permet une compensation efficace des effets de matrice. Cappiello *et al.* (2008) propose l'utilisation d'une source d'ionisation à impact électronique. Cette technologie appelée « Direct-EI LC-MS » génère les ions en phase gazeuse. Ceci élimine les phénomènes de compétition à l'ionisation ou de précipitation des analytes dans la phase liquide suggérés par Matuszewski *et al.* (2003) et King *et al.* (2000).

Dans ce travail de recherche, nous avons étudié les effets de matrice rencontrés pour nos méthodes d'analyse en nous inspirant des travaux de Matuszewski *et al.* (2003) et Van De Steene et Lambert (2008). Matuszewski *et al.* (2003) ont introduit la notion d'« efficacité du procédé » PE, comme étant le produit du « rendement d'extraction » RE et de l'« effet de matrice » ME. Trois solutions étalons préparées de manières différentes et analysées par le même appareil ont permis de déterminer les valeurs de ces trois paramètres pour deux molécules. Van De Steene et Lambert (2008) se sont inspirés des ces travaux et ont porté leur étude sur le paramètre ME et l'effet sur ce dernier de l'utilisation d'un étalon interne, du type de matrice et de chromatographe (HPLC ou UHPLC) employé. Ces deux études nous ont conduits à introduire l'effet de l'étalon interne dans le calcul de l'efficacité du procédé, appelé rendement de réponse RR dans notre étude, dans la mesure où il est souvent employé dans l'analyse environnementale. Notre approche a permis de montrer que le rendement de réponse est inversement proportionnel au rendement d'extraction et à l'effet de matrice de l'étalon interne. Elle permet ainsi de différencier un rendement de réponse supérieur à 100 % causé par des effets de matrice qui augmentent le signal de l'analyte, de celui dû à une surcompensation de ces effets par l'étalon interne.

Matuszewski *et al.* (2003) ont effectué leur étude avec un chromatographe couplé à un spectromètre de masse pouvant être équipé d'une source electrospray ou à ionisation chimique. La nature de la source a un impact sur l'intensité des effets de matrice (Matuszewski *et al.*, 1998; King *et al.*, 2000). Pour les mêmes échantillons analysés, ils ont constaté des différences dans les paramètres PE et ME. Cependant, des variations non négligeables dans les valeurs des rendements d'extraction d'un type de source à l'autre ont également été relevées. Ces résultats pourraient suggérer que le rendement d'extraction ainsi déterminé reste fonction des effets de matrice. Notre approche requiert l'utilisation de deux appareils d'analyse, essentiellement pour la détermination du rendement d'extraction. Cependant, ce paramètre semble exempt d'effets de matrice.

## VI. CONCLUSION

L'objectif de cette étude était le développement d'une méthode d'analyse du bisphénol A et de l'éthinylestradiol, à haute et basse concentrations, dans l'eau ultra pure et l'eau naturelle afin de permettre l'étude de l'adsorption sur charbon actif de ces composés. Le travail avec de très faibles concentrations nous a conduits à développer une méthode d'analyse de traces par SPE-UPLC-MS/MS et une méthode d'analyse HPLC-Fluo. Dans le but de déterminer les limites de quantification et l'erreur sur la concentration estimée, les performances de ces méthodes d'analyse ont été étudiées. L'hétéroscédasticité de la variance du signal du spectromètre de masse a impliqué un traitement différent des données fournies par l'UPLC-MS/MS. L'étude des performances des deux méthodes selon le protocole de l'AFNOR a permis de valider leur linéarité et justesse, et répétabilité inter jour à condition de corriger la variance du signal du spectromètre de masse par une pondération. L'étude de l'hétéroscédasticité des méthodes d'analyse développées sur l'UPLC-MS/MS a permis de déterminer la loi d'évolution de la variance en fonction de la concentration de l'analyte, du type quadratique. Les limites de détection et de quantification, ainsi que les intervalles de confiance pour les trois types de solution étalon et les deux techniques analytiques ont finalement été déterminées. Le tableau II.23 donne pour chaque composé cible et chaque type d'échantillon, les limites de détection et de quantification de la méthode d'analyse par HPLC-Fluo. Et le tableau II.24 donne les valeurs des mêmes paramètres pour la méthode d'analyse par UPLC-MS/MS.

Tableau II.23 Limites de détection et de quantification pour l'analyse du BPA et de l'EE2 par HPLC-Fluo

Molécule	Limite de détection et de quantification					
	HPLC-Fluo					
	Gamme non extraite ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ )		Gamme extraite eau ultra pure ( $\text{ng.L}^{-1}$ )		Gamme extraite eau naturelle ( $\text{ng.L}^{-1}$ )	
	$x_D$	$x_Q$	$x_D$	$x_Q$	$x_D$	$x_Q$
Bisphénol A	12,51	37,85	24,47	71,39	34,10	99,47
Ethinylestradiol	15,99	46,66	15,99	46,66	34,17	99,67

Les limites de quantification élevées pour la méthode UPLC-MS/MS pourront être abaissées, une erreur supérieure à 20,7 % est provisoirement tolérée dans la suite de ce travail, un certain nombre de résultats ayant été validés selon les limites AFNOR avant que ne soient obtenues les limites correctes.

Tableau II.24 Limites de détection et de quantification pour l'analyse du BPA et de l'EE2 par UPLC-MS/MS

Molécule	Limite de détection et de quantification								
	UPLC-MS/MS								
	Gamme non extraite ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ )			Gamme extraite eau ultra pure ( $\text{ng.L}^{-1}$ )			Gamme extraite eau naturelle ( $\text{ng.L}^{-1}$ )		
	$x_D$	$x_Q$ Min	$x_Q$ Max	$x_D$	$x_Q$ Min	$x_Q$ Max	$x_D$	$x_Q$ Min	$x_Q$ Max
Bisphénol A	3,89	57,15	> 200	5,58	93,40	> 200	6,27	109,0	> 200
Ethinylestradiol	4,05	60,41	> 200	5,45	77,99	> 200 (1145)	4,97	62,80	> 200

Les effets de matrice ont été étudiés pour les deux techniques d'analyse et les échantillons extraits provenant de solutions extraites dans l'eau ultra pure et l'eau naturelle. Compte tenu de l'utilisation d'un étalon interne pour la détermination des concentrations des échantillons extraits et non extraits, l'effet d'un analogue structural de l'éthinylestradiol a été inclus dans le calcul des rendements de réponse, obtenus des données de l'UPLC-MS/MS. Notre méthodologie fait intervenir pour ce rendement, un paramètre de compensation des effets de matrice qui est inversement proportionnel au rendement d'extraction et à l'effet de matrice de l'étalon interne. Au terme de notre étude, nous avons constaté que l'estrone compense logiquement les variations du signal de l'éthinylestradiol. En revanche, une différence de comportement à l'ionisation a montré une surcompensation des effets de matrice du bisphénol A. Néanmoins, la suppression ionique, observée sans le traitement des données avec l'étalon interne, a été corrigée, et un rendement de réponse satisfaisant a été obtenu pour le plastifiant.



Enfin, une seconde étude de validation a été entreprise et exposée pour l'éthinylestradiol. Les trois types d'étalonnage pour les deux techniques d'analyse ont été validés selon le protocole de l'AFNOR. Néanmoins, des résultats légèrement meilleurs en termes de limite de détection et de quantification et d'intervalles de confiance ont été obtenus. Ceci suggère la réalisation de plusieurs campagnes de validation afin d'obtenir des valeurs moyennes pour ces paramètres.

Dans la suite de l'étude, consacrée à l'adsorption des deux molécules cibles sur charbon actif, afin de connaître le niveau de confiance que l'on peut accorder à un point expérimental, nous reporterons les intervalles de confiance définis sur les équilibres isothermes et les cinétiques d'adsorption.

## **CHAPITRE III**

# **MODELISATION ET EXTRAPOLATION DES EQUILIBRES ET DES CINETIQUES D'ADSORPTION**



## I. INTRODUCTION

L'efficacité de l'adsorption sur charbon actif de composés perturbateurs endocriniens, en particulier lorsque ceux-ci sont en présence -et donc en compétition- d'une quantité jusqu'à un million de fois plus importante de matière organique dissoute (de l'ordre du mg C.L<sup>-1</sup> par rapport à des ng.L<sup>-1</sup> de produit) est un point crucial lorsque la question des performances d'une station de potabilisation vis-à-vis de ces composés est posée. Déterminer cette efficacité en conditions réelles (ng.L<sup>-1</sup> et dans l'eau naturelle) représente une quantité importante de manipulations lourdes et coûteuses. En particulier la diversité chimique de ces molécules, bien plus importante que pour les pesticides, étudiées jusque là, et le peu d'études systématiques disponibles rendent plus incertaine la transposition des informations d'une situation à une autre, quelle que soit l'eau, le charbon actif ou encore le perturbateur. Dans la mesure où des outils de modélisation de l'adsorption compétitive fiables sur une large gamme de concentrations seraient accessibles, cette efficacité pourrait être estimée par l'extrapolation de ces modèles qui auront été calibrés par des essais réalisés à plus forte concentration (plus simples et plus économiques).

Notre travail doit donc répondre à un objectif double : modéliser l'adsorption, équilibre et cinétique, de certains composés perturbateurs endocriniens sur le charbon actif en eau réelle sur une gamme de concentrations couvrant plus de trois ordres de grandeur, et vérifier et valider la capacité de ces modèles à extrapoler le comportement et les capacités d'adsorption de ces composés en conditions réalistes, à partir d'informations collectées en laboratoire.

Deux types de manipulations sont à prévoir : des manipulations à haute concentration qui doivent permettre de déterminer la valeur des paramètres des modèles, et des manipulations à basse concentration, plus contraignantes et engendrant des coûts supérieurs à celles à haute concentration, du point de vue de l'analyse chimique notamment, qui doivent avant tout nous permettre de vérifier la validité des extrapolations.

Notre objectif est de mettre en place une méthodologie permettant de s'affranchir partiellement ou totalement de ces manipulations d'adsorption à l'état de trace. Un protocole expérimental des manipulations nécessaires à la mise en place de cette méthodologie sera également proposé à l'issue de l'étude. Le type et le nombre de manipulations utilisées pour déterminer les paramètres des modèles ont nécessairement une incidence sur la justesse d'extrapolation de ce dernier. L'une des tâches de la deuxième étape est de déterminer quelles

manipulations seront nécessaires, en fonction de l'erreur finale recherchée de la prévision, et du coût et de la durée de ces manipulations.

Pour construire un modèle de simulation complet, il faut :

- un modèle d'équilibre en corps purs et ses paramètres
- un modèle de compétition et ses paramètres
- un modèle cinétique et ses paramètres à la fois pour le composé cible et pour les compétiteurs

Les modèles d'équilibre des corps purs de Freundlich (F), Langmuir (L) et Langmuir-Freundlich (LF), couramment utilisés dans ce type d'étude, seront envisagés.

L'effet de compétition de la MON devrait être d'autant plus fort que le composé cible est dilué, et on peut s'attendre à une diminution plus importante des capacités d'adsorption du composé cible en eau naturelle à des concentrations de l'ordre du  $\text{ng.L}^{-1}$  qu'à celles à des concentrations de l'ordre du  $\mu\text{g.L}^{-1}$ . Plusieurs approches de la compétition sont possibles. Pour modéliser l'adsorption compétitive des molécules cibles et de la matière organique naturelle (MON) nous avons choisi de nous intéresser à la théorie de la solution idéale adsorbée (IAST pour Ideal Adsorbed Solution Theory) associée au concept du composé fictif équivalent (EBC pour Equivalent Background Compound). Cette approche présente l'avantage d'être ajustée spécifiquement par les effets induits de la compétition d'une eau particulière sur le composé cible ; l'inconvénient est, par contre, que les paramètres obtenus ne sont pas nécessairement transposable à d'autres molécules cibles. Outre les paramètres d'équilibre de l'EBC, sa concentration devra également être déterminée. Ce modèle d'adsorption compétitive fait intervenir un modèle corps pur pour le composé cible et pour la MON, représentée par l'EBC. Les modèles de Freundlich, Langmuir et Langmuir-Freundlich seront également testés en tant que modèle corps pur pour l'EBC.

Pour le modèle cinétique, nous avons sélectionné un modèle comportant deux étapes de transfert indépendant du modèle d'équilibre. Le transfert externe au grain permet de représenter spécifiquement l'influence de l'hydrodynamique du contacteur. Les caractéristiques cinétiques obtenues ensuite pour l'adsorbant seront indépendantes et transposables à d'autres géométries de contacteurs. Pour le charbon actif, nous utiliserons le modèle de diffusion homogène de surface (HSDM pour Homogeneous Surface Diffusion Model). A partir de manipulations effectuées dans l'eau ultra pure, ce modèle nous permettra de déterminer les paramètres cinétiques ( $k_f$  et  $D_s$ ). Deux jeux de paramètres devront être déterminés : ceux du composé cible, qui seront

obtenus par des expériences en eau ultra-pure, et ceux de l'EBC, qui nécessiteront des essais en eau naturelle.

Dans ce chapitre, nous allons appliquer une procédure d'analyse systématique des modèles élémentaires composant le modèle de simulation complet et leur capacité individuelle et collective à l'extrapolation. Leurs capacités d'extrapolation seront évaluées en déterminant l'écart entre les valeurs extrapolées et les résultats expérimentaux obtenus à basse concentration. La comparaison des valeurs des paramètres des modèles entre un ajustement à haute concentration et un ajustement sur l'ensemble des deux gammes fournira également une information sur la validité du modèle.

Au fur et à mesure que les modèles se complexifieront, nous pourrons soit déterminer la capacité globale d'extrapolation en utilisant, pour chaque composante, les paramètres obtenus à haute concentration, soit déterminer, pour la dernière composante introduite, la capacité spécifique d'extrapolation, en utilisant pour les autres composantes les valeurs ajustées sur l'ensemble des deux gammes.

Une première phase consiste donc à analyser les modèles d'équilibre. En eau ultra-pure, les modèles d'adsorption de corps purs seront ajustés, tout d'abord aux résultats expérimentaux obtenus à haute concentration. Les manipulations correspondantes à basse concentration permettront d'identifier le modèle permettant la meilleure extrapolation. Pour la compétition, les essais seront menés en eau naturelle, mais également en eau naturelle diluée au demi. On ne cherchera pas, ici, à valider une extrapolation de l'adsorption du composé fictif à une autre gamme de concentration. Cette dilution permet de provoquer une différence de comportement, qui pourra être spécifiquement imputée à la concentration de l'EBC, et donc de distinguer plus nettement ce qui relève du modèle d'équilibre.

Une seconde phase sera consacrée aux études cinétiques. A partir de manipulations effectuées dans l'eau ultra pure, nous pourrons déterminer les paramètres cinétiques ( $k_f$  et  $D_s$ ) des composés cibles vis-à-vis des charbons. Nous nous intéresserons notamment à la diffusion superficielle  $D_s$ , spécifique à chaque couple polluant/charbon, et à sa variation lorsque la concentration du composé cible diminue. Lors des essais en eau naturelle, c'est à nouveau au travers de la perturbation induite par la présence de la MON sur le composé cible qu'il sera possible de déduire les paramètres cinétiques du composé fictif.

L'ensemble de ces expérimentations sera effectué pour deux perturbateurs endocriniens, le Bisphénol A et l'Éthinylestradiol, deux charbons actifs en poudre courants, le NC90 de Pica et le F400 de Chemviron, et deux eaux naturelles, une eau de puits prélevée dans la nappe phréatique de Rennes et une eau de surface prélevée dans la rivière Meu, qui sert également à l'alimentation de l'usine de production d'eau potable de Villejean.

Une des difficultés, à laquelle nous allons être confrontés, résulte des constatations de la partie précédente : les analyses qui ont été effectuées à basse concentration, ont été traitées en UPLC-MS/MS, qui donnait de meilleures valeurs pour les critères de l'AFNOR et du rapport signal/ bruit, et acceptées quantitativement selon ces mêmes critères. Ce n'est que plus tard, lors d'une réflexion plus poussée sur l'impact de l'hétéroscédasticité, - où est apparue la nécessité d'une ré-estimation des valeurs des limites de quantification selon des règles plus précises -, qu'il s'est avéré que nos valeurs ne respectaient pas ces nouvelles limites. Cela ne signifie pas que nos valeurs sont moins justes, elles sont simplement moins précises que ce qui était attendu initialement.

A l'issue de ce travail, nous récapitulerons les différentes erreurs d'extrapolation obtenues des modèles étudiés, en fonction des manipulations d'équilibre et de cinétique effectuées en eau ultra pure et en eau naturelle et proposerons une première méthodologie ainsi que des pistes quand à la suite à donner.

## **II. MATERIEL ET METHODES**

### **II.1. PERTURBATEURS ENDOCRINIENS CHOISIS**

L'étude des équilibres et des cinétiques d'adsorption a été effectuée avec le bisphénol A (BPA) et l'éthinylestradiol (EE2). Les propriétés physico-chimiques de ces molécules sont disponibles dans le Chapitre II, § II.1 de ce manuscrit.

## II.2. CHARBONS ACTIFS UTILISES

Pour notre étude nous avons choisi deux charbons actifs couramment utilisés dans le traitement de l'eau, de caractéristiques différentes : le charbon Chemviron Filtrasorb 400 (F400), et le charbon Pica NC 90 (Tableau III.1).

Tableau III.1 Caractéristiques des charbons actifs sélectionnés (d'après Baup, 2000; Dudamel, 2005)

Caractéristiques	F400	NC 90
Origine	Fossile	Noix de coco
Diamètre moyen des grains (mm)	0,91	1,72
Surface spécifique (m <sup>2</sup> .g <sup>-1</sup> )	1200	1600
Volume poreux moyen (cm <sup>3</sup> .g <sup>-1</sup> )	0,69	0,74
Volume des micropores (cm <sup>3</sup> .g <sup>-1</sup> )	0,43	0,64
Diamètre moyen de pore (nm)	2,32	1,86
Masse volumique apparente (kg.m <sup>-3</sup> )	750	456

Pour les isothermes d'adsorption, les charbons sont broyés afin d'obtenir des particules d'un diamètre moyen inférieur à 80 µm. Puis, la poudre résultante est lavée plusieurs fois à l'eau ultra pure avant d'être mise en suspension dans cette même eau ultra pure pendant au moins quatre heures afin d'éliminer les substances alcalines et les éventuels composés organiques pré-adsorbés. Enfin, les charbons sont mis à sécher à l'étuve à 150°C pendant 24 heures avant d'être stockés dans un dessiccateur.

## II.3. EAUX UTILISEES

Les équilibres isothermes et cinétiques d'adsorption en solution pure ont été effectués en eau ultra pure, dont les caractéristiques ont été détaillées dans le Chapitre II, § II.1 de ce manuscrit.

Deux types d'eau naturelles ont été utilisés pour les manipulations d'adsorption compétitives, une eau naturelle venant d'un puits de Rennes et une eau naturelle provenant de la rivière Le Meu (Ille et Vilaine). L'eau de puits n'a subi aucun traitement, hormis une filtration sur membrane d'acétate de cellulose 0,2 µm, avant d'être utilisée. Le but de cette filtration étant avant tout une décontamination bactérienne qui n'affecte pas la nature des matières organiques dissoutes, compétitrices de nos composés cibles. Les caractéristiques de l'eau de puits sont



données dans le tableau III.2. Après avoir été prélevée, l'eau de rivière a subi un traitement de coagulation-floculation-décantation afin d'éliminer les matières en suspension et les colloïdes et ainsi abaisser le COT. Le coagulant utilisé est le chlorure ferrique ( $\text{FeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ). Les quantités de coagulant ont été déterminées lors de jar-tests à l'aide d'un flocculateur Fisher Bioblock Scientific 11198, selon le protocole suivant :

Préparation de 500 mL d'eau brute par bécher de 1 L

Agitation rapide à  $150 \text{ tr.min}^{-1}$  pendant 30 secondes

Agitation moyenne à  $30 \text{ tr.min}^{-1}$  pendant 3 minutes

Agitation lente à  $10 \text{ tr.min}^{-1}$  pendant 15 minutes

Décantation pendant 15 minutes.

La quantité optimale de chlorure ferrique obtenue à la suite des jar-tests est de  $60 \text{ mg.L}^{-1}$ . Pour chaque étude, un volume de 100 litres d'eau de rivière a été traité par coagulation-floculation puis filtré sur membrane en acétate de cellulose à  $0,2 \mu\text{m}$ . Les caractéristiques de l'eau après traitement sont données dans le tableau III.2. L'addition de chlorure ferrique entraînant une légère diminution du pH de l'eau, celui-ci a été réajusté à 7,9 par ajout d'une solution de soude 1 M. L'eau était ensuite conservée en chambre froide à  $4^\circ\text{C}$  avant d'être utilisée pour les différentes expériences.

Tableau III.2 Caractéristiques des eaux naturelles utilisées pour l'étude d'adsorption

Caractéristiques	Eau de puits	Eau de rivière
pH	7,0 - 7,8	7,8 - 7,9
COT ( $\text{mgC.L}^{-1}$ )	2,0 - 2,5	2,1 - 3,0
Absorbance UV à 254 nm	0,039 - 0,057	0,030 - 0,042

#### II.4. PROTOCOLE EXPERIMENTAL

Les équilibres et cinétiques d'adsorption ont été effectués dans des réacteurs discontinus agités à température constante. Le principe du montage nécessaire à la conduite de ces isothermes et cinétiques, à haute et basse concentrations est présenté dans la figure III.1. Il est composé d'un ou plusieurs réacteurs, d'un bain thermostaté et d'agitateurs magnétiques. Selon le type de manipulation, les conditions expérimentales varient.

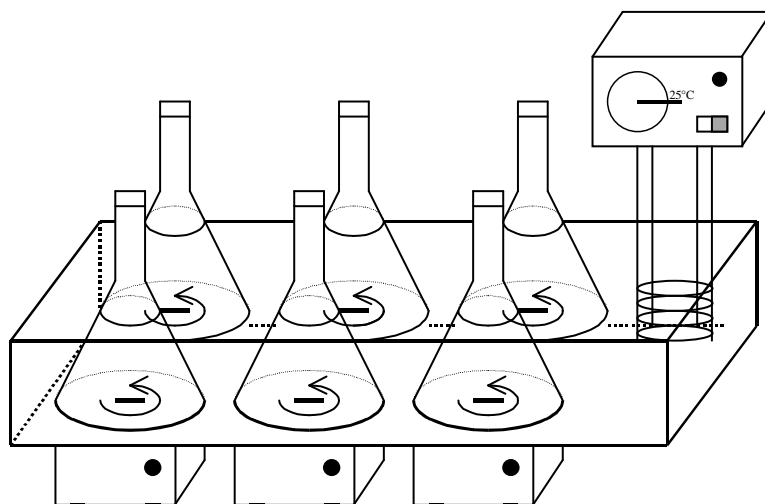


Figure III.1 Montage expérimental pour la réalisation des équilibres isothermes et cinétiques d'adsorption

## II.4.1. MANIPULATIONS A HAUTE CONCENTRATION

### II.4.1.1. Isothermes d'adsorption

Pour chaque triplet charbon/polluant/eau naturelle, 18 solutions du composé cible (à environ  $1 \text{ mg.L}^{-1}$  pour le BPA et  $2 \text{ mg.L}^{-1}$  pour l'EE2) sont préparées dans trois eaux différentes : 6 en eau ultra pure, 6 en eau naturelle et 6 autres en eau naturelle diluée à 50 % avec de l'eau ultra pure. Une solution mère de BPA à  $20 \text{ mg.L}^{-1}$  ou d'EE2 à  $10 \text{ mg.L}^{-1}$  est préparée par dissolution sous agitation magnétique dans l'eau ultra pure ou naturelle et sans ajout de solvant organique (pour aider la dissolution). L'agitation est maintenue trois jours, la solution est analysée par HPLC-Fluo afin de déterminer la concentration exacte. La solution mère est ensuite utilisée pour préparer les solutions des isothermes et cinétiques d'adsorption. Pour chaque type d'eau, des quantités croissantes de charbon actif ( $1$  à  $7 \text{ mg.L}^{-1}$ ), pesées avec précision, sont introduites dans 5 erlenmeyers de  $2,5 \text{ L}$ .  $2 \text{ L}$  de solution de perturbateur endocrinien de concentration initiale connue, sont alors ajoutés dans chaque erlenmeyer sans ajustement du pH. Pour chaque test et chaque type d'eau, un erlenmeyer sans charbon actif est utilisé en tant que témoin. Ces erlenmeyers sont mis sous agitation magnétique pour assurer l'homogénéité de la solution et maintenus à une température de  $25^\circ\text{C}$  grâce à un bain thermostaté. Après 7 jours d'agitation, les concentrations résiduelles en phase liquide sont analysées et les concentrations en phase solide sont déduites du bilan massique. Randtke et Snoeyink (1983) fournissent de nombreuses informations relatives à la conduite des isothermes.

#### II.4.1.2. Cinétiques d'adsorption

Une solution de 2 L du composé cible à  $100 \mu\text{g.L}^{-1}$  est préparée en eau ultra pure, une autre en eau naturelle. Celles-ci sont mises en contact avec 10 mg de charbon dans des erlenmeyers placés dans un bain thermostaté à  $25^{\circ}\text{C}$  pendant 4 h, sous agitation magnétique. Des prélèvements de la solution sont effectués afin de suivre l'évolution de la concentration du composé cible.

Les échantillons prélevés lors des isothermes et cinétiques d'adsorption effectuées à haute concentration sont filtrés sur fibre de verre à  $0,7 \mu\text{m}$  puis analysés, selon la méthode mise en place dans le Chapitre II de ce manuscrit.

#### II.4.2. MANIPULATIONS A BASSE CONCENTRATION

##### II.4.2.1. Isothermes d'adsorption

Pour les manipulations à basse concentration, le protocole expérimental est similaire aux manipulations à haute concentration. Seule la concentration initiale du composé cible change, et est de  $2 \mu\text{g.L}^{-1}$  quel que soit le composé cible. Après 24 h de temps de contact, les échantillons sont extraits sur phase solide et analysés.

##### II.4.2.2. Cinétiques d'adsorption

Pour le protocole expérimental des cinétiques à basse concentration, les volumes et concentration de la solution du composé cible changent. Une solution de 10 L du polluant à  $2 \mu\text{g.L}^{-1}$  est préparée en eau ultra pure, une autre en eau naturelle. Celles-ci sont mises en contact avec 50 mg de charbon dans des réacteurs placés dans un bain thermostaté à  $25^{\circ}\text{C}$  pendant 4h, sous agitation magnétique. Des prélèvements de la solution sont effectués afin de suivre l'évolution de la concentration du composé cible.

##### II.4.2.3. Analyses

Pour chacun des 18 erlenmeyers des équilibres d'adsorption, un échantillon de 500 mL est prélevé et filtré sur membrane acétate de cellulose à  $0,2 \mu\text{m}$ . Pour les cinétiques d'adsorption, 5 échantillons de 300 mL sont prélevés au cours du temps et filtrés sur membrane. Des gammes d'étalonnage extraites (de 5 à  $200 \text{ng.L}^{-1}$ ) sont préparées, l'une dans l'eau ultra pure et l'autre dans l'eau naturelle, selon le protocole donné dans le Chapitre II de ce manuscrit. Les

échantillons des équilibres et des cinétiques, et les 12 solutions étalons extraites subissent une extraction sur phase solide selon le protocole défini dans le Chapitre II de ce manuscrit. L'extraction est stoppée après l'étape d'éluion et les éluats sont conservés à -18°C, pour être évaporés, repris et analysés une fois que toutes les manipulations basses concentrations ont été réalisées, pour un même triplet polluant/charbon/eau naturelle.

#### II.4.2.4. Précision, incertitudes des résultats

Il est classique d'évaluer la pertinence des résultats en procédant à des répliques des essais. Cette approche permet d'obtenir un intervalle de confiance des résultats qui englobent tous les petites incertitudes : dans la préparation des solutions, dans la pesée du charbon et liées à son hétérogénéité, dans le prélèvement, dans l'analyse (extraction, détection, ...), ... et dans la qualité de l'eau.

Certaines expériences, tant cinétiques que d'équilibres, ont été dupliquées.

Pendant, la réplique des essais avec de l'eau naturelle est toujours délicate car la qualité de l'eau n'est pas constante et a tendance à évoluer si elle n'est pas utilisée dans des délais assez courts, à moins de manipuler simultanément de grandes quantités d'eau et de pouvoir mener toutes les expériences (équilibre et cinétiques en eau naturelle et eau naturelle diluée à haute et basse concentration) et leurs répliques en parallèle. Ce qui n'a techniquement pas été faisable. Une campagne pour un triplet composé/charbon actif/eau naturelle prend en moyenne trois semaines.

Il a fallu faire des choix. Il a été décidé de multiplier les triplets pour disposer d'informations sur plus de situations différentes, plutôt que de consolider toutes les mesures. C'est également une manière de se rapprocher d'un usage probable du protocole par des exploitants ou des directions techniques. Certaines conséquences seront examinées pour éventuellement pouvoir proposer des solutions alternatives.

## II.5. MODELISATION ET SIMULATION DES EQUILIBRES ET DES CINETIQUES D'ADSORPTION

L'utilisation de la modélisation est très répandue dans le domaine du traitement de l'eau. Les résultats de manipulations d'adsorption réalisées à l'échelle pilote sont modélisés afin d'obtenir les paramètres d'équilibre et cinétiques. Ces paramètres sont par la suite utilisés afin de

simuler les équilibres et cinétiques d'adsorption à échelle réelle et de dimensionner le procédé de la filière de traitement d'eau potable. Les manipulations à l'échelle pilote doivent être dans des conditions proches des conditions réelles afin d'obtenir des paramètres et des dimensionnements pertinents. Une extrapolation juste permettrait de réaliser les manipulations à l'échelle pilote à haute concentration et de simuler les équilibre et cinétique d'adsorption à basse concentration, dans le but de permettre le dimensionnement approprié du procédé de traitement.

### II.5.1. MODELISATION DE L'ADSORPTION

La modélisation de l'adsorption fait appel simultanément à plusieurs aspects clés, qui sont l'équilibre, la cinétique et l'hydrodynamique du contacteur (réacteur). La notion de compétition (entre plusieurs solutés ou avec la matière organique naturelle) est prise en compte au niveau de l'équilibre et de la cinétique. La figure III.2 présente l'enchaînement de ces différents modules.

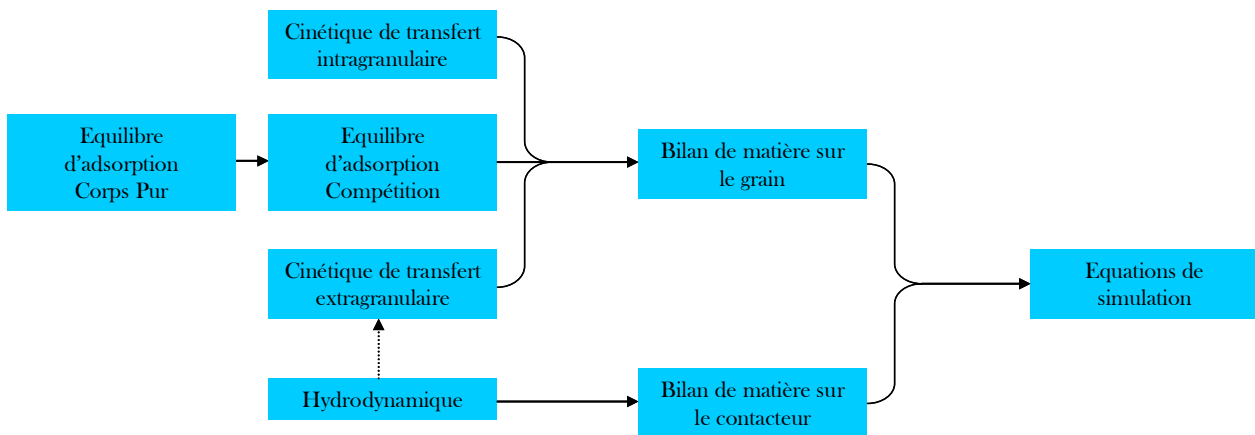


Figure III.2 Les étapes d'une modélisation globale de l'adsorption (Baup, 2000)

Afin de parvenir à une simulation globale, il est indispensable d'établir les équations propres à chaque module, d'abord en corps pur, puis en compétition. Pour le comportement en corps pur, nous avons sélectionné :

Modèle de Freundlich :  $q_e = KC_e^{1/n}$

Modèle de Langmuir :  $q_e = q_m \frac{bC_e}{1 + bC_e}$

$$\text{Modèle de Langmuir-Freundlich : } q_e = q_m \frac{[bC_e]^n}{1 + [bC_e]^n}$$

La compétition sera modélisée à l'aide de la théorie de la solution adsorbée idéale (IAST) associée au concept du composé fictif équivalent (EBC). L'IAST permet de décrire l'adsorption compétitive de deux composés, quels qu'ils soient, et quels que soient leurs modèles d'équilibre en corps purs. Dans le cas de l'adsorption en eau naturelle, le concept de l'EBC réduit toutes les molécules entrant en compétition avec le composé cible à un seul composé fictif. La modélisation IAST associée à l'EBC permet de déterminer les paramètres d'adsorption et la concentration initiale de ce composé fictif.

L'idéalité de la solution adsorbée :

$$C_{ei} = x_i C_i^o(\pi_m) \quad x_i = \frac{q_{ei}}{q_T} \quad q_T = \sum_{i=1}^{nc} q_{ei}$$

$$\text{La répartition homogène des sites d'adsorption } \frac{1}{q_T} = \sum_{i=1}^{nc} \frac{x_i}{q_i^o}$$

$$\text{L'égalité des tensions superficielles } \pi_i(C_i^o) = \pi_m = \frac{RT}{A_p} \int_0^{C_i^o} \frac{q_i^o}{C_i^o} dC_i^o$$

$$\text{Les lois d'équilibres corps pur: } q_i^o = f(C_i^o)$$

Les manipulations ont été réalisées dans un contacteur parfaitement agité discontinu (type batch). L'application du modèle à deux étapes de transfert avec une diffusion de surface homogène au sein du grain de charbon actif conduit au système suivant :

$$\text{Le transfert externe vers le grain} \quad k_{f,i}(C_i - C_{s,i}) = D_{s,i} \rho_p \frac{\partial q_i}{\partial r}$$

$$\text{La diffusion au sein du grain selon l'HSDM} \quad \varepsilon \rho \frac{\partial q_i}{\partial t} = \frac{1}{r^2} \frac{\partial}{\partial r} \left( D_{s,i} r^2 \frac{\partial q_i}{\partial r} \right)$$

$$\text{Le bilan sur un réacteur de type RPA.} \quad V \cdot \frac{dC_i}{dt} = -k_{f,i} \cdot (C_i - C_{s,i})$$

$$\text{L'équilibre} \quad F_{IAST}(C_{s,i}; q_{i,r=R_p}) = 0$$

Les conditions initiales et aux limites :

$$\text{à } t = 0 \text{ et } 0 \leq r \leq R_p, q_i = 0 \quad \text{et} \quad \text{à } r = R_p, C_{s,i} = C_{0,i} = C_{b,i} \text{ et } q_i = 0$$

$$\text{à } t > 0 \text{ et } r = 0, \frac{\partial q_i}{\partial r} = 0 \quad \text{et} \quad \text{à } r = R_p, q_{s,i} \text{ en équilibre avec } C_{s,i}$$

La figure III.3 localise les paramètres à déterminer dans le schéma global. On y retrouve les paramètres des modèles d'équilibre ( $q_m$  et  $b$  pour Langmuir,  $K$  et  $n$  pour Freundlich,  $q_m$ ,  $b$  et

n pour Langmuir-Freundlich). L'IAST n'a pas de paramètre inconnu propre, mais il sera nécessaire de déterminer la concentration du composé fictif et ses paramètres d'équilibre corps pur. Il y a ensuite les paramètres cinétiques  $k_f$  et  $D_s$  de la cible et de l'EBC, respectivement pour le transfert externe et la diffusion au cœur des grains de charbon actif.

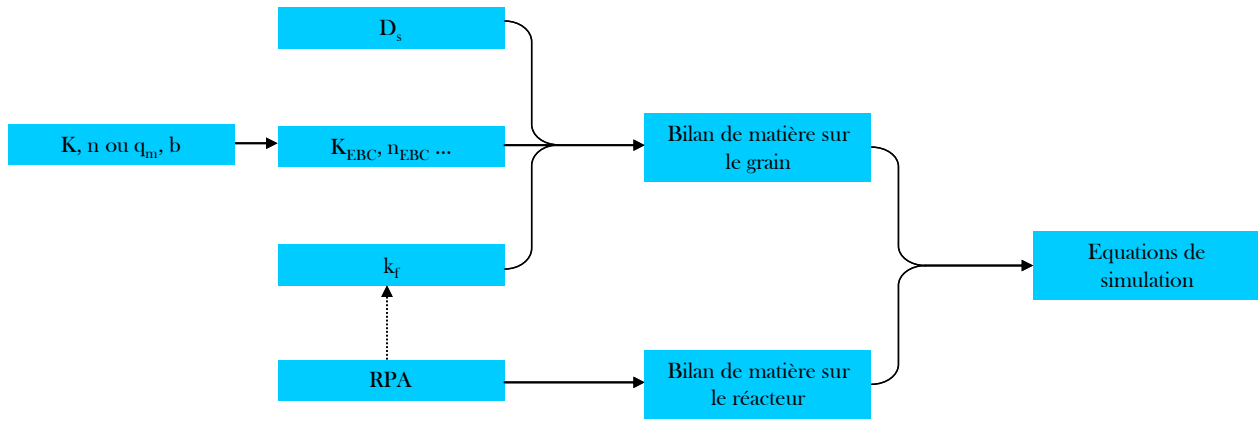


Figure III.3 Représentation de notre modélisation

### II.5.2. OBTENTION DES PARAMETRES CINETIQUES ET D'EQUILIBRE

Les paramètres cinétiques et d'équilibre du composé cible et de l'EBC doivent être déterminés. Pour ce faire, les manipulations d'équilibre isotherme et de cinétiques d'adsorption sont réalisées dans l'eau ultra pure et dans l'eau naturelle. Les données expérimentales sont ensuite modélisées et les paramètres sont déterminés par optimisation. La figure III.4 représente les différents paramètres d'adsorption déterminés à l'aide des modèles d'équilibre et cinétiques à partir des manipulations d'adsorption.

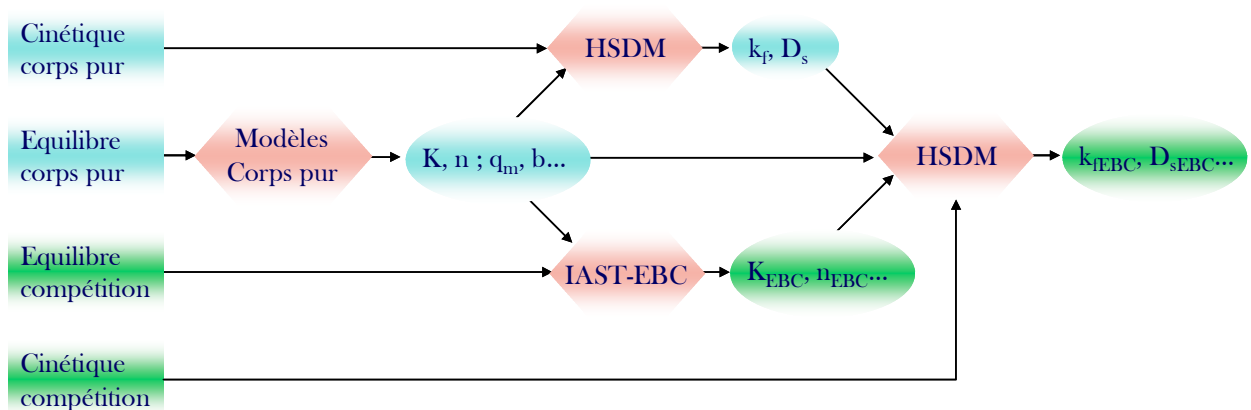


Figure III.4 Représentation schématique de l'obtention des paramètres d'adsorption

Dans le cas la modélisation globale de l'adsorption des perturbateurs endocriniens à très basse concentration, deux solutions sont possibles pour l'obtention des paramètres d'adsorption : réaliser les manipulations à très basse concentration, ou les effectuer à haute concentration et appliquer aux résultats expérimentaux correspondants des modèles dont les paramètres permettent l'extrapolation à basse concentration.

### II.5.3. DETERMINATION DES PARAMETRES ET SIMULATION DES MODELES D'EQUILIBRE D'ADSORPTION EN CORPS PUR

Les équilibres d'adsorption représentent la quantité adsorbée à l'équilibre ( $q_e$ ) du composé cible en fonction de la concentration en solution à l'équilibre  $C_e$ . La quantité adsorbée à l'équilibre est calculée à partir de la concentration en phase liquide selon la relation suivante :

$$q_e = \frac{(C_0 - C_e)}{w} \quad (3.1)$$

Pour l'estimation de l'erreur sur  $q_e$ , nous appliquerons le calcul de propagation de variances :

$$\text{var}(q_e) = \frac{1}{w^2} \cdot (\text{var}(C_0) + \text{var}(C_e)) + \left(\frac{q_e}{w}\right)^2 \cdot \text{var}(w) \quad (3.2)$$

La relation entre variance et intervalle de confiance a été discutée précédemment.

où  $C_0$  la concentration initiale et  $w$  la concentration de charbon.

Pour les trois modèles corps purs testés, les paramètres d'adsorption ont été obtenus en se servant de l'outil d'optimisation « Solveur » du logiciel Microsoft Excel, en ajustant les modèles sur les valeurs expérimentales avec le plus faible critère possible. Ce critère  $\phi_1$  correspond à la somme des écarts relatifs entre la quantité adsorbée expérimentale  $q_{e,i,exp}$  et celle calculée par le modèle  $q_{e,i,mod}$  (Equation 3.3).

$$\phi_1 = \sum_{i=1}^n \phi_i = \sum_{i=1}^n \left( \frac{q_{e,i,mod} - q_{e,i,exp}}{q_{e,i,exp}} \right)^2 \quad (3.3)$$

$n$  est le nombre d'équilibres réalisées entre une molécule, un charbon et une eau.

Sachant que les modèles d'équilibre relient les deux grandeurs  $C_e$  et  $q_e$ , il s'agit de rechercher la valeur du vecteur de paramètres  $\theta$ , minimisant ce critère.



$$\text{Min}_{\theta} \left[ \sum_{i=1}^n \left( \frac{q_{e,i}(C_{e,i_{\text{exp}}}, \theta) - q_{e,i_{\text{exp}}}}{q_{e,i_{\text{exp}}}} \right)^2 \right] \quad (3.4)$$

La justesse du modèle par rapport aux données expérimentales est déterminée par l'erreur E (Equation 3.5), l'erreur moyenne de la simulation.

$$E = \frac{\sum_{i=1}^n \sqrt{\varphi_i}}{n} \quad (3.5)$$

A noter que les concentrations seront exprimées en  $\mu\text{mol.L}^{-1}$  et  $\mu\text{mol.g}^{-1}$ , comme l'exige l'utilisation de l'IAST.

#### II.5.4. DETERMINATION DES PARAMETRES ET SIMULATION DE L'EBC. A PARTIR DES MODELES D'EQUILIBRE D'ADSORPTION EN COMPETITION

Un programme FORTRAN (IASIDE) développé au sein de l'équipe Chimie et Ingénierie des Procédés (CIP) de l'ENSCR, est utilisé afin de simuler et d'ajuster les paramètres pour les équilibres d'adsorption en compétition en utilisant l'IAST et les 3 modèles corps purs. Les résultats des équilibres d'adsorption en eau naturelle et en eau naturelle diluée permettent de rechercher les paramètres d'équilibre et la concentration de l'EBC. Ils sont déterminés en ajustant les données calculées par le modèle sur les données expérimentales avec le critère  $\varphi_2$  le plus faible possible (Equation 3.6).

$$\varphi_2 = \sum_{i=1}^n \varphi_i = \sum_{i=1}^n \left( \frac{C_{e,i_{\text{mod}}} - C_{e,i_{\text{exp}}}}{C_{e,i_{\text{exp}}}} \right)^2 + \left( \frac{q_{e,i_{\text{mod}}} - q_{e,i_{\text{exp}}}}{q_{e,i_{\text{exp}}}} \right)^2 \quad (3.6)$$

Le critère porte, dans ce cas, sur les deux grandeurs  $C_e$  et  $q_e$ , car pour la compétition, les informations nécessaires à une simulation sont uniquement les concentrations initiales et la dose de charbon :  $C_{e,i_{\text{mod}}}$  et  $q_{e,i_{\text{mod}}}$  sont deux résultats de la simulation.

La résolution numérique met en jeu les algorithmes de Newton-Raphson (calcul de l'équilibre) et de Gauss-Newton (optimisation).

L'erreur des simulations sera calculée à l'aide de l'équation 3.5.

## II.5.5. DETERMINATION DES PARAMETRES ET SIMULATION DES CINETIQUES D'ADSORPTION EN CORPS PUR ET EN COMPETITION

Le coefficient de transfert de masse externe ( $k_f$ ) et le coefficient de diffusion superficielle ( $D_s$ ) sont déterminés à l'aide d'un programme FORTRAN (ADSORPA), également développé dans l'équipe CIP par Baup (2000). Il permet de déterminer simultanément les deux paramètres cinétiques d'adsorption du composé cible en corps pur, puis ceux de l'EBC pour les manipulations en compétition.

Lors de la détermination de  $k_f$  et  $D_s$ , le programme utilise les modèles d'équilibres en corps pur et en compétition, listés précédemment pour calculer l'équilibre à la surface du grain. Là encore, le programme recherche la meilleure adéquation possible entre les résultats expérimentaux et les données calculées par le modèle, c'est-à-dire à minimiser le critère  $\varphi_3$  (Equation 3.7).

$$\varphi_3 = \sum_{i=1}^m \left( 2 \cdot \frac{C_{\text{mod}}(t_i) - C_{\text{exp}}(t_i)}{C_{\text{mod}}(t_i) + C_{\text{exp}}(t_i)} \right)^2 \quad (3.7)$$

$m$  est le nombre de prélèvements dans le temps sur une cinétique,  $C_{\text{exp}}(t_i)$  est la valeur expérimentale de la concentration de la phase aqueuse à l'instant  $t_i$  et  $C_{\text{mod}}(t_i)$  la valeur calculée au même instant et pour les mêmes conditions initiales. Il ne s'agit pas de concentrations d'équilibre à moins d'attendre suffisamment longtemps.

La résolution numérique des équations fait intervenir, en plus des méthodes de Newton-Raphson et de Gauss-Newton précédente, la méthode de Gear pour l'intégration des équations différentielles. L'erreur des simulations sera calculée à l'aide de l'équation (3.8).

$$E = \frac{\sum_{i=1}^m \left| \frac{C_{\text{mod}}(t_i) - C_{\text{exp}}(t_i)}{C_{\text{exp}}(t_i)} \right|}{m} \quad (3.8)$$

## II.5.6. CONSTRUCTION D'UN PROTOCOLE DESTINE A L'EXTRAPOLATION

Le protocole d'extrapolation devra comprendre les conditions expérimentales des manipulations à réaliser et les ajustements des modèles qu'il faut appliquer sur les résultats de celles-ci afin d'obtenir les paramètres d'adsorption -permettant l'extrapolation- destinés à la modélisation globale en eau réelle à des concentrations de l'ordre du  $\text{ng.L}^{-1}$ .

L'idéal serait, bien sûr, que ce protocole puisse ne faire appel qu'à des manipulations à haute concentration, ne nécessitant pas d'étape d'extraction, en corps pur comme en compétition (Figure III.5). Dans notre étude, les manipulations à basse concentration seront effectuées en premier lieu dans le but de déterminer les erreurs d'extrapolation.

Cependant, dans le cas où l'erreur d'extrapolation à partir uniquement d'informations obtenues à haute concentration, est trop importante. Il sera envisagé que certaines manipulations basse concentration, en particulier en corps pur, puissent être ajoutées au protocole afin de consolider l'extrapolation en conditions réelles.

Avec 2 molécules assez différentes chimiquement, 2 charbons ayant des caractéristiques différentes et 2 eaux, nous pourrions examiner 8 situations plus ou moins différentes. Ce n'est certainement pas suffisant pour en tirer des règles générales et des garanties sur la validité de la transposition à d'autres cas. Mais nous devrions pouvoir, à l'issue de ce travail, proposer un ou plusieurs protocoles, avec ou sans manipulations à basse concentration, avec une estimation de l'erreur d'extrapolation dans chaque cas, qui mériterait un complément de validation.

## **III. MODELISATION ET EXTRAPOLATION DES EQUILIBRES D'ADSORPTION**

### **III.1. INTRODUCTION**

Cette partie s'organisera autour de la recherche des modèles d'équilibre d'adsorption capables d'offrir l'extrapolation des capacités d'adsorption la plus juste. Dans ce but, les modèles testés sont ajustés uniquement sur les données expérimentales haute concentration puis sont extrapolés. La justesse de l'extrapolation est vérifiée à l'aide des manipulations à basse concentration. Ces mêmes modèles seront ajustés sur la gamme totale de concentration dans le but de décrire au mieux l'adsorption des composés cibles et constituer un jeu de paramètres de référence. L'ajustement global constituera également un point de comparaison avec les ajustements à haute concentration. Nous traiterons dans un premier temps des études d'isothermes effectuées dans l'eau ultra pure, où les modèles de Freundlich (F), Langmuir (L) et Langmuir-Freundlich (LF) ont été testés. L'effet de compétition de la matière organique sur la capacité d'adsorption des charbons vis-à-vis des perturbateurs endocriniens sera ensuite étudié au moyen de manipulations effectuées dans l'eau naturelle. Les meilleurs modèles corps purs

d'extrapolation et globaux seront associés aux modèles F, L et LF pour l'EBC lors de la modélisation IAST. Les justesses des modélisations résultantes seront calculées et comparées.

Pour l'identification des différents jeux de paramètres, nous noterons CP-HC les résultats avec les paramètres obtenus à haute concentration en corps purs, CP-T ceux obtenus sur l'ensemble de la gamme (haute et basse concentration) en corps pur. L'erreur pourra être évaluée, par rapport aux expériences à haute concentration ( $E_{HC}$ ), à celles à basses concentrations ( $E_{BC}$ ), ou par rapport à l'ensemble des expériences ( $E_T$ ).

Pour les études en compétition, il faut distinguer le modèle de la cible et celui de l'EBC et le domaine d'ajustement de chacun de ces modèles. Nous les noterons :

$$\text{IAST } M_{\text{cible}} - M_{\text{EBC}} \text{ CP X} - \text{C Y}$$

$M_{\text{cible}}$  est le modèle du composé cible et  $M_{\text{EBC}}$  celui de l'EBC : Freundlich (F), Langmuir (L) ou Langmuir-Freundlich (LF).

« CP X » est la gamme d'ajustement corps pur de la molécule cible, « C Y » est la gamme d'ajustement en compétition de l'EBC, avec pour X et Y soit HC si l'ajustement est basé sur la gamme haute concentration, soit T s'il est basé sur l'ensemble du domaine de concentrations.

Ainsi, à titre d'exemple, l'«  $E_{BC}$  » de « IAST LF-F CP HC -C HC » est l'erreur moyenne entre le modèle et les valeurs expérimentales à basse concentration en eau naturelle lorsque le comportement en corps pur de la molécule cible est modélisé par un modèle de Langmuir-Freundlich ajusté à haute concentration et que le comportement de corps pur fictif de l'EBC est modélisé par un modèle de Freundlich dont les paramètres ont également été obtenus à haute concentration : Il s'agit donc, dans ce cas, de l'estimation de l'erreur d'extrapolation aux basses concentrations d'un modèle d'adsorption compétitive entièrement calibré à haute concentration.

## III.2. EQUILIBRES ISOTHERMES D'ADSORPTION EN CORPS PUR

### III.2.1. EQUILIBRES A HAUTE CONCENTRATION

#### III.2.1.1. Influence du type de charbon et de molécule sur les capacités d'adsorption

Une étude préliminaire a été effectuée sur quatre charbons actifs en poudre (les charbons actifs F400, NC90 et deux charbon actif Pica de base noix de coco, NC60 et TE60). Les cinétiques d'adsorption des deux composés cibles en eau ultra pure ont été réalisées et ont permis de sélectionner les charbons F400 et NC90, offrant les adsorptions les plus rapides.

Les isothermes d'adsorption à haute concentration ont été réalisées en eau ultra pure pour les quatre couples polluant/charbon.

La figure III.5 illustre les résultats obtenus pour des réplifications, présentés ici dans le cas du Bisphénol A. On notera en général une dispersion des points qui, compte tenu des incertitudes de mesures, est dans les limites normales.

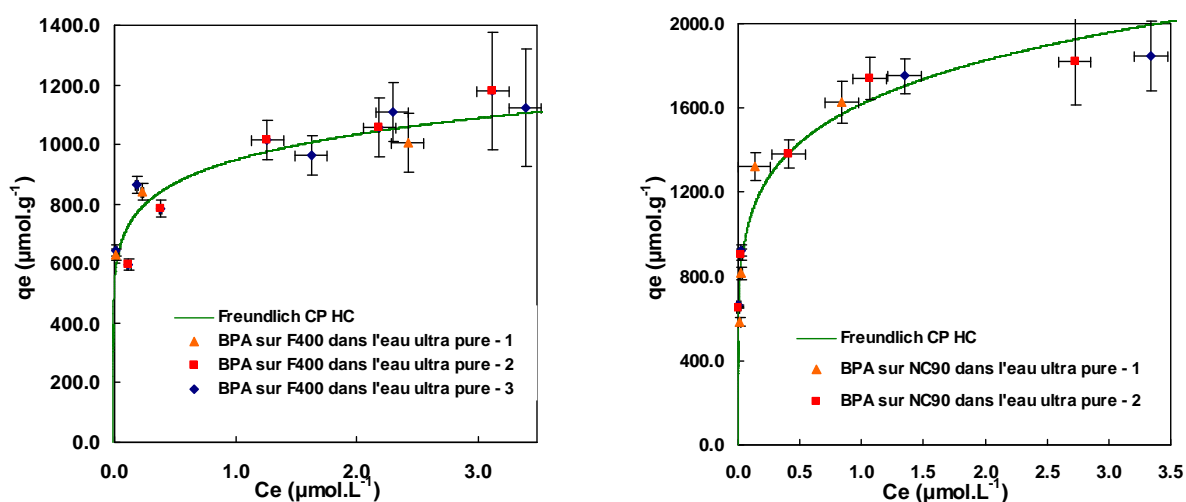


Figure III.5 Comparaison des réplifications des équilibres isothermes pour l'adsorption du bisphénol A sur les deux charbons

La figure III.6 représente les isothermes d'adsorption du bisphénol A et de l'éthinylestradiol sur les deux charbons actifs étudiés, simulées par le modèle de Freundlich. Deux cas ont été représentés : le modèle de Freundlich ajusté sur une série et le modèle de Freundlich ajusté sur l'ensemble de points issus des réplifications.

Les résultats montrent que sur un même charbon les deux composés cibles ne s'adsorbent pas de la même façon. En effet, sur le charbon actif F400, il apparaît clairement que l'éthinylestradiol est plus adsorbé que le bisphénol A. Les données expérimentales de l'adsorption sur le charbon NC90 confirme ce comportement. Avec une différence cependant pour ce charbon, la diminution des capacités d'adsorption avec la concentration est plus prononcée pour le BPA que pour l'EE2. Avec le charbon F400, cette évolution est moins nette.

Il faut également noter que les modèles ajustés sur une seule série de valeurs expérimentales conduisent à des paramètres dont l'intervalle de confiance à 95% inclut la valeur des paramètres obtenus sur l'ensemble des points : pour le BPA sur NC90, le paramètre  $1/n$  vaut  $0,225 \pm 0,13$  pour la série et  $0,169 \pm 0,025$  globalement, et le paramètre  $\ln(K)$  vaut  $7,52 \pm 0,42$  pour la série et  $7,40 \pm 0,08$  globalement. La réciproque n'est pas forcément vraie, en particulier en raison d'une

précision plus grande. Le résultat sur une série est donc une estimation statistiquement valable, même si elle n'est pas nécessairement très précise. Il apparaît d'ores et déjà, que dans le cas du modèle de Freundlich, l'extrapolation vers les basses concentrations sera assez sensible à ces paramètres.

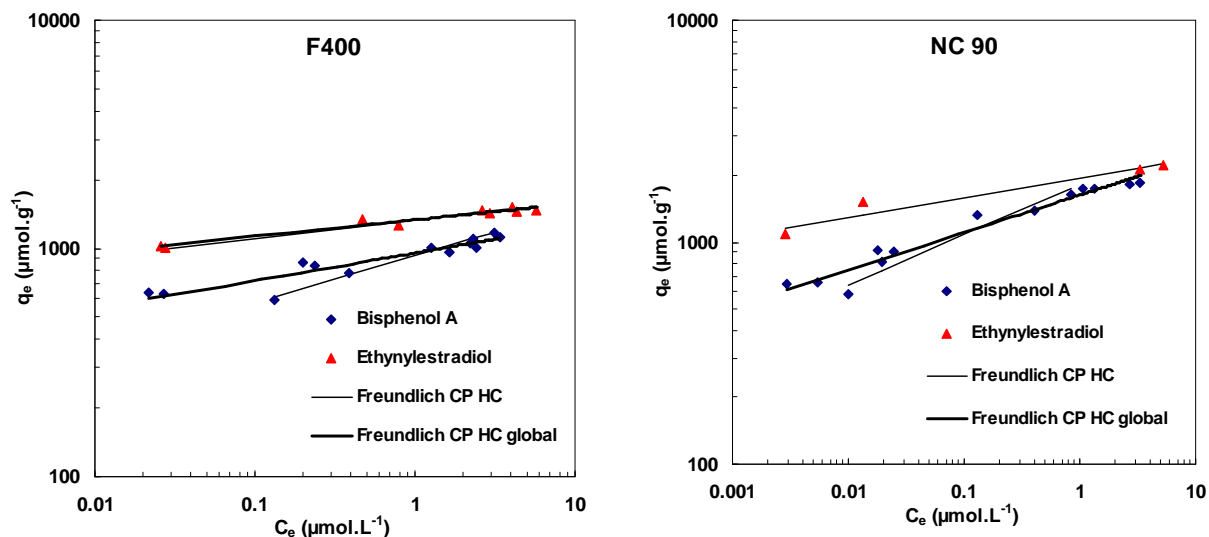


Figure III.6 Comparaison des capacités des charbons actifs F400 et NC 90 pour l'adsorption du bisphénol A et de l'éthinylestradiol et des modèles de Freundlich correspondant à l'ensemble de points (tous les réplicats) et pour une série parmi les réplications.

La différence de comportement observée vis-à-vis de l'adsorption des deux molécules cibles a été constatée sur d'autres charbons actifs en poudre par Yoon *et al.* (2003). Au pH de travail (5,5), les deux molécules sont sous forme moléculaire. Dans ce cas, comme il a déjà été rapporté par Choi *et al.*, (2005), la capacité d'adsorption peut être liée au caractère hydrophobe de la molécule, dont le  $\text{Log}K_{ow}$  nous donne une indication. Le  $\text{Log}K_{ow}$  de l'EE2 (4,1) étant supérieur à celui du BPA (3,3), il n'est alors pas surprenant de voir l'EE2 s'adsorber en plus grande quantité, et ce quel que soit le charbon.

Quel que soit le polluant testé, le charbon actif NC90 montre des capacités d'adsorption supérieures au CAP F400. Son volume microporeux supérieur ( $V = 0,64 \text{ cm}^3.\text{g}^{-1}$  pour le CAP NC90 et  $0,43 \text{ cm}^3.\text{g}^{-1}$  pour le CAP F400) confirmé également par sa surface spécifique plus importante ( $1600 \text{ m}^2.\text{g}^{-1}$  pour le NC90 contre  $1200 \text{ m}^2.\text{g}^{-1}$  pour le F400), peuvent expliquer la différence constatée.

### III.2.1.2. Détermination des modèles d'équilibre à haute concentration

Les trois modèles corps purs de Freundlich, de Langmuir et de Langmuir-Freundlich ont été ajustés sur les données expérimentales obtenues. Les tableaux III.3, III.4 et III.5 donnent les paramètres d'adsorption et l'erreur des trois modèles corps purs testés.

Tableau III.3 Paramètres du modèle CP HC de Freundlich de l'adsorption du bisphénol A et de l'éthinylestradiol sur les charbons actifs F400 et NC 90 en eau ultra pure

Charbon actif	Modèle de Freundlich					
	Bisphénol A			Ethinylestradiol		
	K ( $\mu\text{mol.g}^{-1}(\mu\text{mol.L}^{-1})^{-1/n}$ )	1/n	E <sub>HC</sub> (%)	K ( $\mu\text{mol.g}^{-1}(\mu\text{mol.L}^{-1})^{-1/n}$ )	1/n	E <sub>HC</sub> (%)
F400	931,0	0,21	2,4	1334,6	0,06	2,2
NC 90	1816,4	0,23	9,7	1936,1	0,09	5,5

Tableau III.4 Paramètres du modèle CP HC de Langmuir de l'adsorption du bisphénol A et de l'éthinylestradiol sur les charbons actifs F400 et NC 90 en eau ultra pure

Charbon actif	Modèle de Langmuir					
	Bisphénol A			Ethinylestradiol		
	q <sub>m</sub> ( $\mu\text{mol.g}^{-1}$ )	b	E <sub>HC</sub> (%)	q <sub>m</sub> ( $\mu\text{mol.g}^{-1}$ )	b	E <sub>HC</sub> (%)
F400	1218,7	4,76	6,8	1434,4	97,4	1,6
NC 90	1575,5	56,7	3,4	2067,5	344,8	6,8

Tableau III.5 Paramètres du modèle CP HC de Langmuir-Freundlich de l'adsorption du bisphénol A et de l'éthinylestradiol sur les charbons actifs F400 et NC 90 en eau ultra pure

Charbon actif	Modèle de Langmuir-Freundlich							
	Bisphénol A				Ethinylestradiol			
	q <sub>m</sub> ( $\mu\text{mol.g}^{-1}$ )	b	1/n	E <sub>HC</sub> (%)	q <sub>m</sub> ( $\mu\text{mol.g}^{-1}$ )	b	1/n	E <sub>HC</sub> (%)
F400	1200,1	7,74	0,72	3,0	1516,4	195,0	0,46	0,2
NC 90	1724,9	41,7	0,75	1,7	2222,8	315,6	0,52	1,1

Les figures III.7 et III.8 montrent les isothermes d'adsorption des composés cibles sur les deux charbons actifs étudiés, simulées par les trois modèles testés.

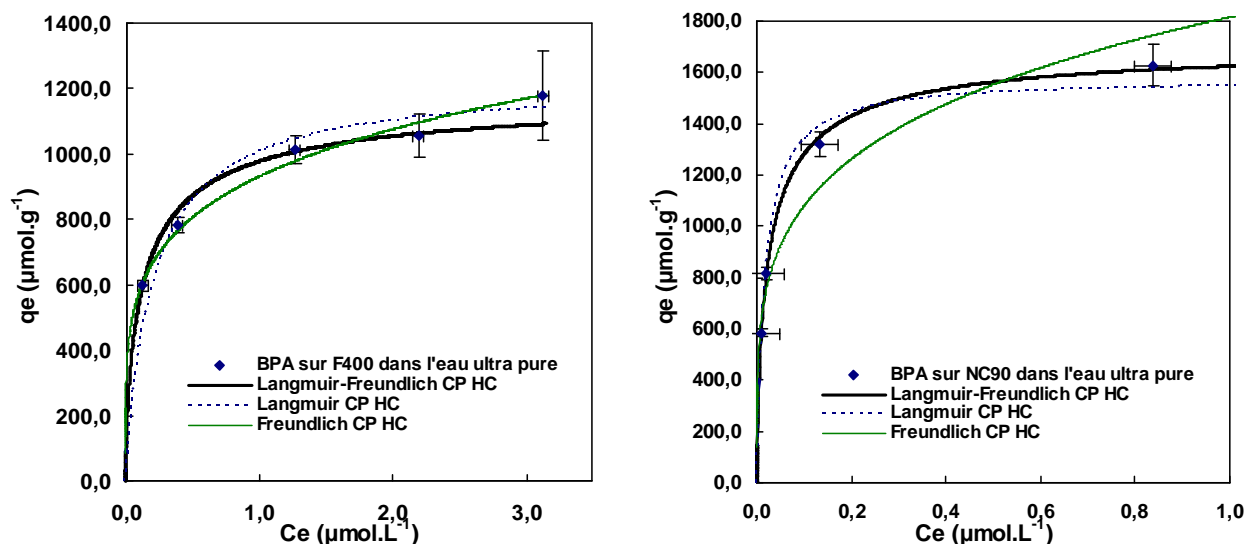


Figure III.7 Equilibres isothermes d'adsorption du bisphénol A en corps pur sur charbons actifs en poudre F400 et NC 90

Les erreurs de chaque modèle par rapport aux données expérimentales montrent qu'avec une erreur moyenne de 1,5 % le modèle de Langmuir-Freundlich permet globalement une meilleure description de l'adsorption sur charbon actif des deux espèces testées. L'équation de ce modèle est composée de trois paramètres, il peut par conséquent s'adapter plus facilement aux isothermes expérimentales. Dudamel (2005) a simulé de façon satisfaisante les isothermes d'adsorption de l'atrazine et de l'imidaclopride à l'aide de ce modèle. Ces deux pesticides de masses molaires équivalentes à nos composés cibles ont montré des capacités d'adsorption maximales cohérentes avec nos résultats (atrazine :  $q_m = 1429 \mu\text{mol.g}^{-1}$  et imidaclopride :  $q_m = 1405 \mu\text{mol.g}^{-1}$ ).

Les modèles de Freundlich et de Langmuir, avec des erreurs moyennes de 5,0 % et 4,7 % respectivement, semblent tous deux capables de représenter le phénomène d'adsorption des composés cibles à ce niveau de concentration. En effet, ces erreurs doivent être considérées au regard de l'incertitude moyenne des points expérimentaux (de 2 à 12 % d'erreur pour  $q_e$  pour les quatre couples). Le modèle de Freundlich a été utilisé avec succès pour l'adsorption de pesticides (Abiven, 2002; Dudamel, 2005) et de perturbateurs endocriniens (Yu *et al.*, 2008). Choi *et al.*, (2005) ont simulé de manière satisfaisante, à l'aide du modèle de Freundlich, l'adsorption de perturbateurs endocriniens sur différents charbons, ils ont notamment travaillé avec le bisphénol A et le charbon actif F400.

Le modèle de Freundlich a naturellement plus de difficultés à être ajusté à des expériences présentant un net palier de saturation (NC90) et inversement pour le modèle de



Langmuir lorsqu'il n'y pas de palier suffisamment net (BPA/F400). Le modèle combiné a historiquement été conçu justement dans le but d'éviter ces inconvénients respectifs.

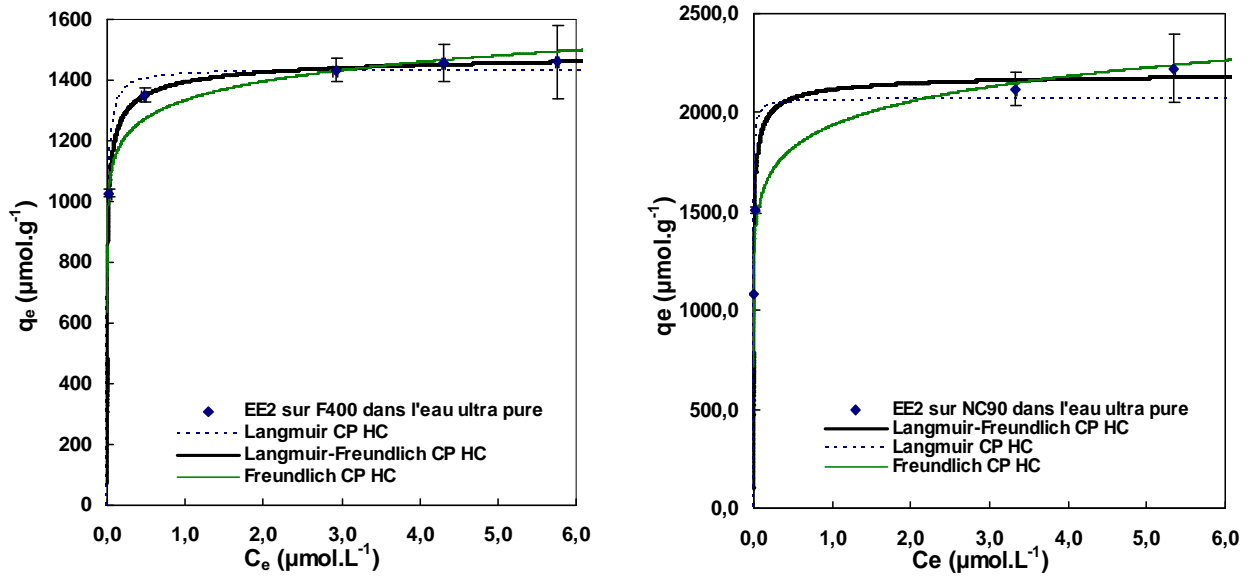


Figure III.8 Equilibres isothermes d'adsorption de l'éthinylestradiol en corps pur sur charbons actifs en poudre F400 et NC 90

Dans la suite de l'étude, nous nous intéresserons à ces différences entre les modèles, non plus sur un domaine de concentration restreint mais à deux niveaux distincts de concentration initiale, de  $C_0 = 1$  à  $2 \text{ mg.L}^{-1}$  à  $C_0 = 2 \text{ µg.L}^{-1}$ .

### III.2.2. EXPERIENCES A BASSE CONCENTRATION ET EXTRAPOLATION DES MODELES

Des expériences à basse concentration, valeur à l'équilibre ciblée entre  $1$  et  $50 \text{ ng.L}^{-1}$ , ont été réalisées pour chaque couple polluant/charbon actif. Puis à l'aide des paramètres déterminés à partir des expériences à haute concentration pour les trois modèles, la capacité d'adsorption  $q_e$  peut être calculée pour des concentrations  $C_e$  équivalentes. Les figures III.9 et III.10 montrent les isothermes d'adsorption théoriques (en échelle logarithmique), ajustées à haute concentration et extrapolées à basse concentration, pour les quatre couples charbon/polluant étudiés, ainsi que les points d'équilibre, haute et basse concentrations, obtenus expérimentalement dans chaque cas. Le tableau III.6 résume les erreurs d'extrapolation dans chaque cas et pour chaque modèle.

Sur le plan expérimental, il apparaît clairement, pour tous les couples, une importante différence de comportement entre les deux niveaux de concentration. Il est, en effet attendu que la relation d'équilibre tende vers une relation de proportionnalité entre les concentrations en phase fluide et celle en phase solide lorsqu'elles tendent vers zéro (loi de Henry). Dans le cadre des hypothèses de Langmuir, cela se produit lorsque la capacité occupée  $q_e$  est négligeable devant la capacité maximale  $q_m$ . Au regard des hypothèses pouvant conduire au modèle de Freundlich, celui-ci est mis en défaut car il suppose au départ une distribution hétérogène des énergies d'interaction adsorbat/adsorbant, or avec très peu de molécules adsorbées, les sites occupés n'ont pas une grande diversité d'énergie. On observe donc une évolution locale du paramètre  $1/n$  de Freundlich en fonction du niveau des concentrations.

Exprimé en termes de paramètre  $1/n$  correspondant à la pente de la droite en représentation logarithmique, ce dernier doit localement tendre vers 1. Etant tous inférieurs à 1 à haute concentration (de 0,06 à 0,23), il est normal d'observer des pentes plus raides à basse concentrations (de 0,56 jusqu'à 1 dans le cas EE2/F400).

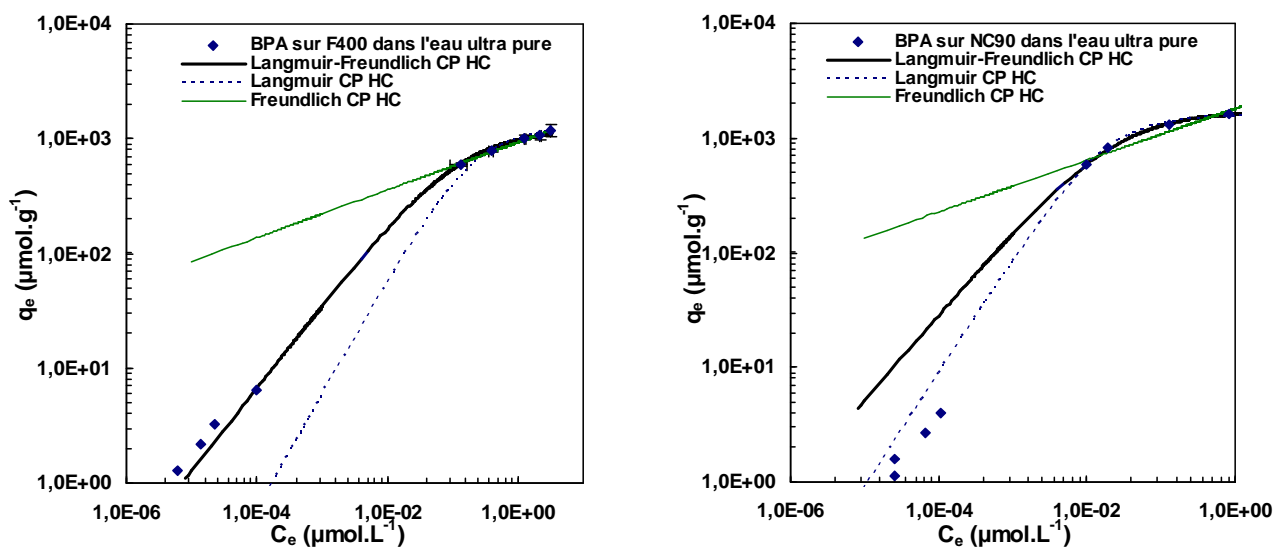


Figure III.9 Equilibres isothermes d'adsorption du bisphénol A en solution corps pur sur charbons actifs en poudre F400 et NC 90, et les trois modèles d'adsorption ajustés à haute concentration et extrapolé à basse concentration

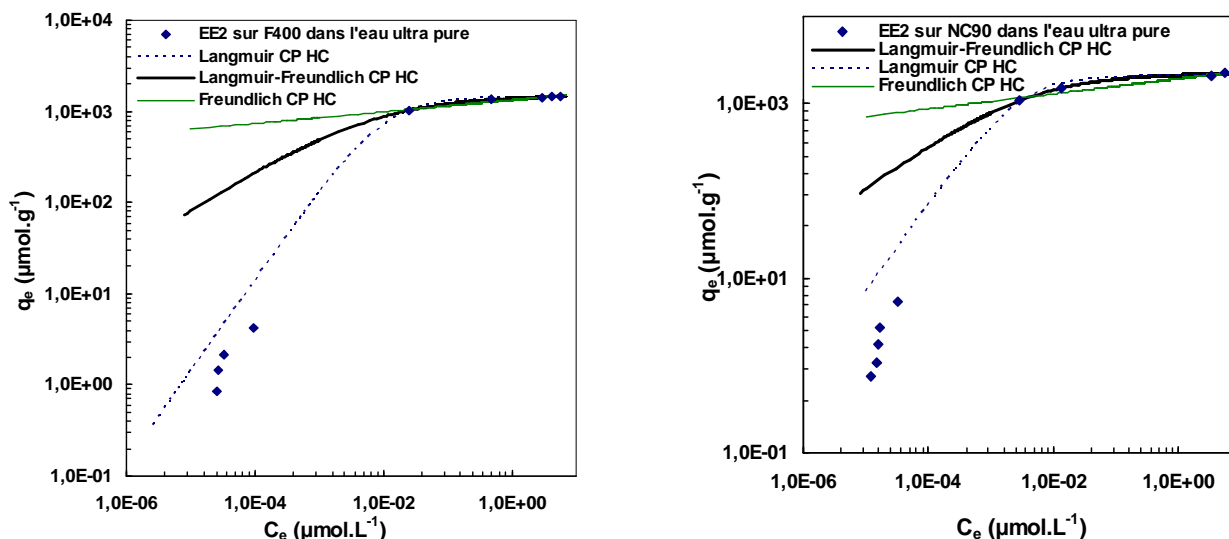


Figure III.10 Equilibres isothermes d'adsorption de l'éthinylestradiol en solution corps pur sur charbons actifs en poudre F400 et NC 90, et les trois modèles d'adsorption ajustés à haute concentration et extrapolé à basse concentration

Les figures III.9 et III.10 et le tableau III.6 illustrent clairement la mise en défaut du modèle de Freundlich qui n'est pas en mesure de prévoir les capacités d'adsorption BC des couples étudiés, lorsque l'ajustement est effectué sur les données haute concentration.

Tableau III.6 Erreurs moyennes des extrapolations à basse concentration des modèles CP HC testés pour l'adsorption du bisphénol A et de l'éthinylestradiol en corps pur sur les charbons actifs F400 et NC 90

Modèle	Erreur de l'extrapolation aux basses concentrations $E_{BC}$ (%)			
	Bisphénol A		Ethinylestradiol	
	F400	NC 90	F400	NC 90
Freundlich	3750	9586	65701	54474
Langmuir	95,2	101,3	212,2	182,4
Langmuir- Freundlich	22,8	671,2	9861	6646

Dans 1 cas sur 4, le modèle de Langmuir-Freundlich est celui qui permet l'extrapolation la plus juste avec 22,8 % d'erreur. Dans les trois autres cas, le modèle de Langmuir est celui qui prédit le mieux l'adsorption à basse concentration. Les capacités d'adsorption y sont surestimées, néanmoins l'erreur est bien plus faible que dans le cas du modèle de Freundlich, de 95,2 % à 212,2 %.

Tout comme il est possible d'avoir l'intervalle de confiance de la valeur de  $q_e$  expérimental, il est possible d'avoir le domaine d'incertitude de  $q_{e,mod}$  théorique par un calcul de

propagation de variance, dont un exemple dans le cas du modèle Langmuir est donné ci-dessous :

$$\begin{aligned}
 q_{e,\text{mod}} &= q_m \frac{bC_e}{1+bC_e} \\
 \text{var}(q_{e,\text{mod}}) &= \left( \frac{bC_e}{1+bC_e} \right)^2 * \text{var}(q_m) + \left( \frac{q_m C_e}{1+bC_e} - \frac{q_m b C_e^2}{(1+bC_e)^2} \right)^2 * \text{var}(b) \\
 &\quad + 2 \cdot \left( \frac{bC_e}{1+bC_e} \right) \cdot \left( \frac{q_m C_e}{1+bC_e} - \frac{q_m b C_e^2}{(1+bC_e)^2} \right) \cdot \text{cov}(q_m, b) + \left( \frac{q_m b}{1+bC_e} - \frac{q_m b^2 C_e}{(1+bC_e)^2} \right)^2 * \text{var}(C_e)
 \end{aligned} \tag{3.9}$$

L'incertitude peut ainsi être calculée en chaque point. En considérant des intervalles de confiance de  $\pm 10\%$  pour les paramètres et de  $\pm 20\%$  pour la concentration  $C_e$  ( $\approx$  définition de la  $L_Q$ ), le domaine d'incertitude de  $q_{e,\text{mod}}$  extrapolé pour l'exemple BPA/NC90 couvre de  $\pm 51\%$  à  $\pm 84\%$ . En procédant de même pour les résultats expérimentaux (Eq. 3.2), l'intervalle de confiance de  $q_{e,\text{exp}}$  est de l'ordre de  $\pm 15\%$ . Dans ces conditions, des erreurs de l'ordre de 100 % et plus, sont à la limite de ce qui pourrait être acceptable.

La détermination de la variance des paramètres ajustées et la propagation de variance lors d'une simulation est relativement simple lorsqu'il s'agit de modèle linéaire (courbe d'étalonnage de l'analyse). Elle reste abordable pour ceux pouvant être transformés en modèle linéaire (Freundlich, Langmuir). Mais dans le cas de modèle plus complexe à résolution explicite (Langmuir-Freundlich) et encore plus lorsqu'il faut résoudre des systèmes d'équations (modèles de compétition), il faut développer et mettre en œuvre des outils d'analyse et d'exploitation des résultats qui sortent du cadre de notre projet. Un premier exemple de cette difficulté apparaît lorsque la question de l'incertitude porte, non pas sur  $q_{e,\text{mod}}$ , mais sur  $C_{e,\text{mod}}$ , la valeur simulée de la concentration à l'équilibre à partir de la concentration initiale et la dose de charbon qui nécessite la résolution d'équations telles que :

$$\frac{(C_0 - C_{e,\text{mod}})}{w} = q_m \frac{bC_{e,\text{mod}}}{1+bC_{e,\text{mod}}} \quad \text{pour Langmuir} \tag{3.10}$$

$$\text{Ou} \quad \frac{(C_0 - C_{e,\text{mod}})}{w} = q_m \frac{(b \cdot C_{e,\text{mod}})^{1/n}}{1+(b \cdot C_{e,\text{mod}})^{1/n}} \quad \text{pour Langmuir-Freundlich} \tag{3.11}$$

Si dans le premier cas, une solution analytique est possible (équation du second degré) et donc une propagation de variance lourde mais directe et envisageable. Dans le second cas, la solution ne peut être que numérique et l'estimation du domaine d'incertitude de  $C_{e,\text{mod}}$  plus délicate.

Les principales conclusions qui peuvent être tirées de ces premiers essais sont :

- il existe des modèles d'équilibre d'adsorption corps pur capables de représenter correctement le comportement de molécules, de type perturbateurs endocriniens, à haute et basse concentrations : Langmuir et Langmuir-Freundlich
- Le modèle de Freundlich n'est pas utilisable.
- Il est possible de paramétrer certains modèles à haute concentration et les extrapoler à basse concentration.
- Le nombre de manipulations, trop limité lors de ces essais, ne permet pas de fiabiliser le processus : on ne peut pas garantir systématiquement l'extrapolabilité avec une incertitude raisonnable. Le nombre de manipulations devrait être renforcé, éventuellement avec des niveaux de concentration intermédiaires, afin de focaliser un peu plus certains paramètres.

A ce stade, il est difficile de dire si des expérimentations supplémentaires en corps purs à haute concentration sont indispensables. En effet, tout dépendra de la sensibilité du modèle complet à des imprécisions au niveau du modèle d'équilibre corps pur.

### III.2.3.DETERMINATION DES MODELES D'EQUILIBRE SUR LA GAMME TOTALE DE CONCENTRATION

#### III.2.3.1. Evaluation des erreurs de la simulation

Nous venons d'évaluer les capacités d'extrapolation aux basses concentrations des trois modèles corps pur en déterminant leurs paramètres d'adsorption par l'ajustement aux données expérimentales à haute concentration. Les manipulations à basse concentration ont permis de quantifier l'erreur commise lors de l'extrapolation. Ces mêmes modèles peuvent être ajustés sur l'ensemble des données expérimentales, obtenues à haute et basse concentrations, dans le but d'obtenir une description de l'adsorption sur la totalité du domaine.

En faisant l'hypothèse qu'un modèle traduise le vrai comportement, alors il doit exister un jeu unique de valeurs des paramètres pour ce modèle, valable sur l'ensemble du domaine. Ces valeurs seront d'autant plus précises que toutes les données expérimentales disponibles seront exploitées pour leur obtention. L'erreur entre le modèle et les expériences devrait alors relever de l'erreur aléatoire de manipulation. Nous disposons donc, à supposer la validité de l'hypothèse, d'une estimation de l'intervalle de confiance moyen auquel nous pourrions confronter l'erreur d'extrapolation obtenue précédemment.

Les figures III.11 et III.12 montrent les résultats pour l'adsorption du BPA et de l'EE2 avec les modèles de Freundlich, de Langmuir et de Langmuir-Freundlich ajustés sur la gamme totale de concentration. Les erreurs à haute et basse concentrations ainsi que l'erreur globale des simulations sont rapportées dans les tableaux III.7 et III.8.

Tableau III.7 Erreurs moyennes à haute et basse concentrations et erreur moyenne globale des modélisations CP T de l'adsorption du bisphénol A sur les charbons actifs F400 et NC 90

Modèle	Erreurs de l'ajustement global pour le Bisphénol A (%)					
	F400			NC 90		
	$E_{HC}$	$E_{BC}$	$E_T$	$E_{HC}$	$E_{BC}$	$E_T$
Freundlich	28,1	6,7	18,6	62,7	10,1	36,4
Langmuir	43,8	20,8	31,0	18,8	16,5	17,6
Langmuir- Freundlich	3,3	13,4	7,8	7,0	19,3	13,1

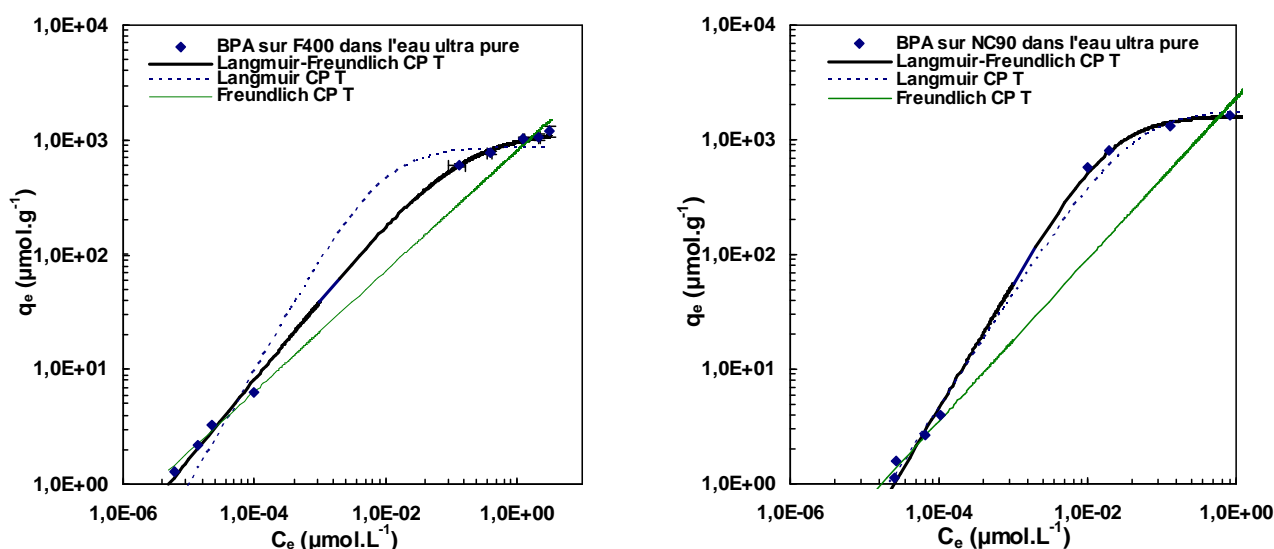


Figure III.11 Equilibres isothermes d'adsorption du bisphénol A en solution corps pur sur charbons actifs en poudre F400 et NC 90, et les trois modèles d'adsorption ajustés sur l'ensemble des 2 gammes de concentrations

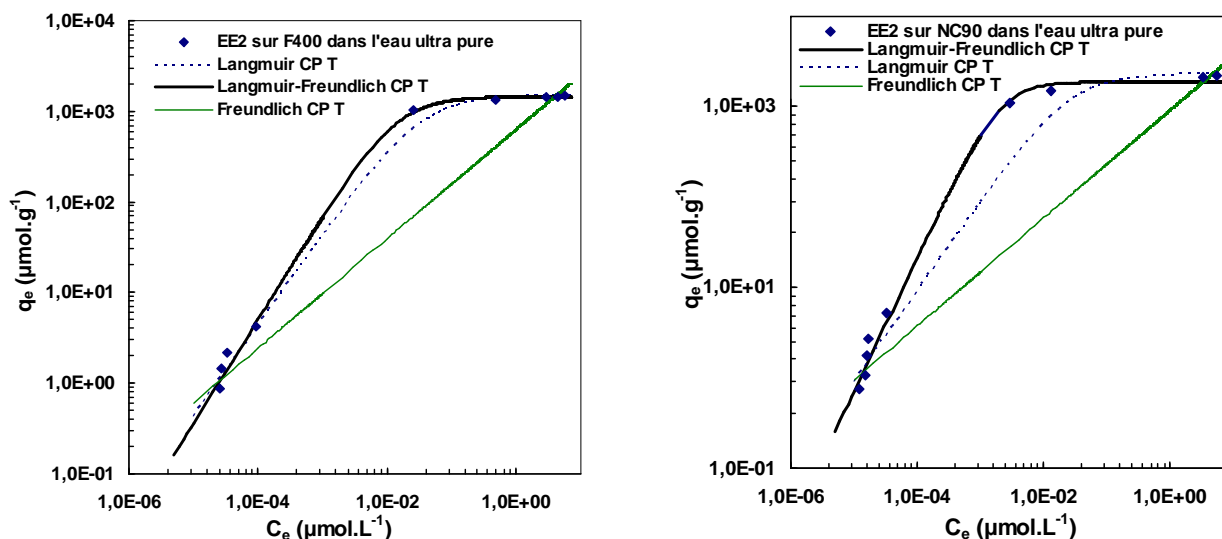


Figure III.12 Equilibres isothermes d'adsorption de l'éthinylestradiol en solution corps pur sur charbons actifs en poudre F400 et NC 90, et les trois modèles d'adsorption ajustés sur l'ensemble des 2 gammes de concentrations

La valeur de l'erreur globale,  $E_T$ , indique que le modèle de Langmuir-Freundlich donne les meilleurs résultats dans tous les cas. Ayant un paramètre de plus, il offre plus de degrés de liberté pour l'ajustement. Cela ne veut pas nécessairement dire que les hypothèses sur lesquels il est construit soient toutes vérifiées. D'autre part, les modèles à deux paramètres ne traduisent pas forcément correctement la réalité sur l'intégralité du domaine, non plus. Nous l'avons déjà signalé pour le modèle de Freundlich, qui échouait à l'extrapolation. Il apparaît que le modèle de Langmuir présente pour certaines isothermes (BPA/F400, EE2/NC90) des défauts d'ajustement qui ne peuvent pas être expliqués par les seules erreurs expérimentales.

Tableau III.8 Erreurs moyennes à haute et basse concentrations et erreur moyenne globale des modélisations CP T de l'adsorption de l'éthinylestradiol sur les charbons actifs F400 et NC 90

Modèle	Erreurs de l'ajustement global pour l'éthinylestradiol (%)					
	F400			NC 90		
	$E_{HC}$	$E_{BC}$	$E_T$	$E_{HC}$	$E_{BC}$	$E_T$
Freundlich	41,8	32,4	37,1	54,1	39,4	46,0
Langmuir	9,5	18,6	14,1	34,0	35,2	34,7
Langmuir- Freundlich	2,7	18,0	10,3	12,7	25,8	20,0

En comparant ces résultats avec ceux de l'ajustement effectué uniquement sur les données haute concentration (Tableaux III.3 et III.4), il n'est pas surprenant de constater une

augmentation de l'erreur du modèle à haute concentration. En effet, la prise en compte de valeurs à basse concentrations introduit des contraintes supplémentaires. Pour le modèle de Langmuir, l'erreur  $E_{HC-CP T}$  est, en moyenne pour tous les couples polluant/charbon, 5 fois plus importante que  $E_{HC-CP HC}$ .

Pour le modèle de Langmuir-Freundlich, on observe des résultats différents selon les molécules : pour le BPA, il y a peu d'écart, alors que pour l'EE2 l'erreur est plus de 10 fois supérieure. Il faut cependant modérer ces remarques par le fait que toutes ces erreurs vont de 2,7 % à 25 % au maximum, soit tout à fait dans la gamme du « bruit » lié aux erreurs expérimentales.

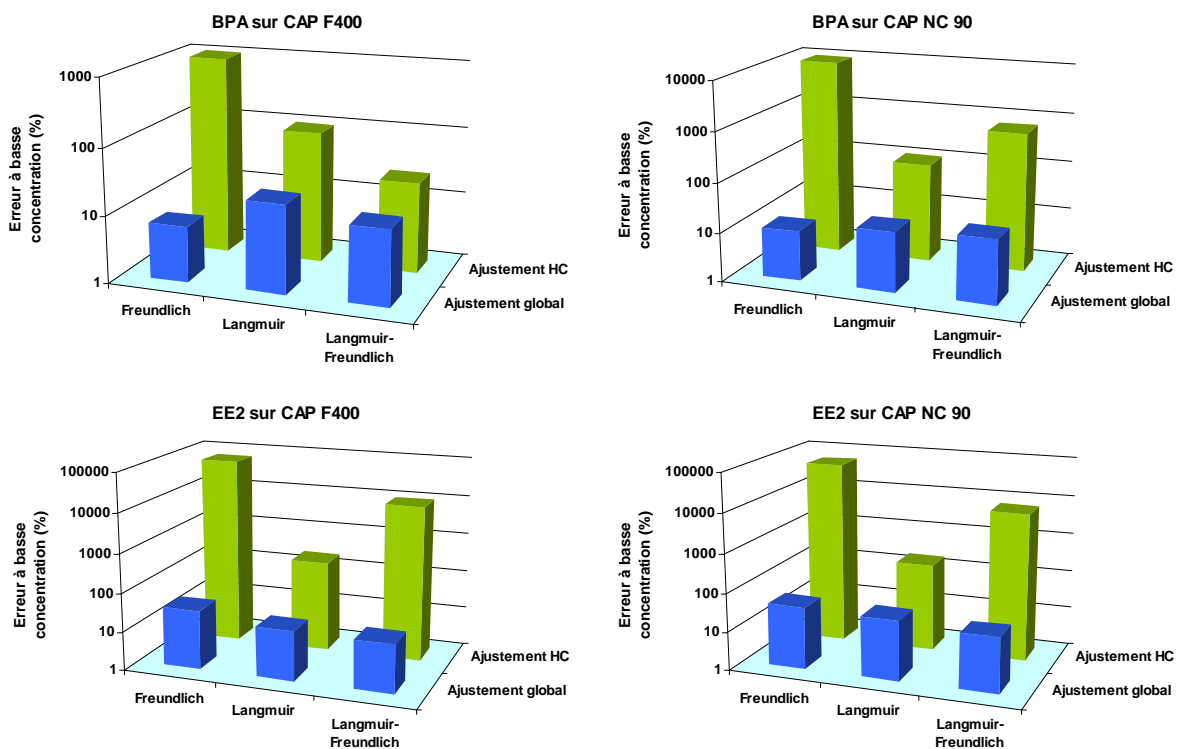


Figure III.13 Erreurs d'extrapolation ( $E_{BC-CP HC}$ ) et de simulation à basse concentration ( $E_{BC-CP T}$ ) des modèles de Freundlich, de Langmuir et de Langmuir-Freundlich pour les quatre couples polluant/charbon testés

La figure III.13 compare l'erreur d'extrapolation à basse concentration à l'erreur de simulation des trois modèles testés et le tableau III.9 donne la valeur de leurs ratios. Il apparaît que pour le couple BPA/F400, le modèle de Langmuir-Freundlich ne multiplie l'erreur à basse concentration que par 1,7 dans le cas de l'extrapolation. Pour les trois autres couples, nous avons vu que le modèle de Langmuir permet la meilleure extrapolation. Dans ces cas, l'erreur est multipliée par un facteur moyen de 7,5, donnant une erreur d'extrapolation moyenne de 148 %.



Tableau III.9 Ratio des erreurs d'extrapolation et de simulation à basse concentrations de l'adsorption du bisphénol A et de l'éthinylestradiol sur les charbons actifs F400 et NC 90

Ratio -	erreur d'extrapolation ( $E_{BC-CP HC}$ )			
	erreur simulation en ajustement global ( $E_{BC-CP T}$ )			
	Bisphénol A		Ethinylestradiol	
	F400	NC 90	F400	NC 90
Freundlich	559,7	949,1	2027,8	1382,6
Langmuir	4,6	6,1	11,4	5,2
Langmuir- Freundlich	1,7	34,8	547,8	257,6

### III.2.3.2. Discussion des paramètres du modèle de Langmuir-Freundlich

Les manipulations effectuées à haute et basse concentrations permettent d'étudier l'effet de la dilution du composé cible sur les capacités d'adsorption. Le modèle de Langmuir-Freundlich s'est seul montré capable de représenter cet effet sur une large gamme de concentration. Ainsi, le phénomène d'adsorption des molécules cibles semble correspondre aux hypothèses sur lesquelles repose ce modèle.

Le modèle de Langmuir-Freundlich partage la majorité de ses hypothèses avec le modèle Langmuir :

- L'adsorption est localisée, c'est-à-dire qu'une molécule adsorbée est située sur un site bien défini de l'adsorbant,
- chaque site n'est susceptible de fixer qu'une molécule,
- les interactions entre les molécules adsorbées ne sont pas considérées,
- la surface du matériau peut être saturée par une monocouche de soluté.

En revanche, la différence qu'il existe entre les deux modèles concerne la distribution des énergies d'adsorption. Le modèle de Langmuir suppose la surface du matériau adsorbant homogène, c'est-à-dire que l'énergie d'adsorption des tous les sites est considérée identique. Le modèle de Langmuir-Freundlich suppose une distribution quasi-gaussienne de l'énergie d'adsorption (Nieszporek et Rudzinski, 2002).

Tableau III.10 Paramètres du modèle de Langmuir-Freundlich ajusté sur la gamme totale de concentration pour la simulation de l'adsorption du bisphénol A et de l'éthinylestradiol sur les charbons actifs F400 et NC 90

Charbon actif	Modèle de Langmuir-Freundlich					
	Bisphénol A			Ethinylestradiol		
	$q_m$ ( $\mu\text{mol.g}^{-1}$ )	$b$	$1/n$	$q_m$ ( $\mu\text{mol.g}^{-1}$ )	$b$	$1/n$
F400	1191,3	7,75	0,70	1443,3	72,8	1,15
NC 90	1611,1	48,9	1,10	1877,0	484,5	1,48

Les résultats obtenus regroupés dans le tableau III.10, confirment ce que nous avons vu dans la partie II.2.2.1 ; chaque couple polluant/charbon présente une valeur de capacité maximale d'adsorption qui lui est propre. La concentration maximale en phase solide de l'éthinylestradiol est supérieure à celle du bisphénol A. Cette caractéristique peut, entre autres, être attribuée au caractère hydrophobe plus important pour l'hormone de synthèse. De plus, la surface spécifique supérieure du charbon actif NC 90 lui permet d'offrir un plus grand nombre de sites et donc d'adsorber une plus grande quantité de polluant que le charbon F400.

Dans l'équation de Langmuir-Freundlich, le paramètre  $n$  est proportionnel à l'écart-type de la distribution des énergies d'adsorption (Equation 3.12) (Dudamel, 2005).

$$\frac{1}{n} = \frac{RT}{\sigma_{\Delta U}} \quad (3.12)$$

Cette équation implique que plus  $n$  est petit, plus la distribution des énergies d'adsorption est resserrée. Ainsi, la distribution des énergies d'interaction pour le couple BPA/F400 est la plus hétérogène et celle du couple EE2/NC90 est la plus homogène.

L'évolution du paramètre  $b$ , qui traduit la constante d'équilibre, ratio des constantes de vitesses d'adsorption et de désorption, est similaire sur les deux charbons et pour les deux molécules : sur un même charbon, on observe un rapport 9,6 et 9,9 entre le  $b_{EE2}$  et  $b_{BPA}$  ; pour une même molécule, le rapport obtenu est de 6,3 et 6,6 entre le  $b_{NC90}$  et  $b_{F400}$ . Ceci suggère que, si les deux aspects, molécule et charbon, affecte la valeur de la constante d'équilibre, cette influence s'exercerait de manière indépendante, en tout cas pour ces deux composés sur ces deux charbons actifs.

En comparant les valeurs des paramètres dans le tableau III.5, obtenus à haute concentration, et celles du tableau III.10, il apparaît que seul le couple BPA/F400 a un ensemble de valeurs ajustées HC proche des valeurs ajustées sur l'intégralité de la gamme de concentrations. La principale erreur se situe au niveau du paramètre  $(1/n)$  avec des écarts de l'ordre de 30 à 60 %, et qui traduit aussi un changement dans la forme puisque l'on passe d'une

forme concave ( $1/n < 1$ ) à une forme plutôt convexe ( $1/n > 1$ ) de la relation entre  $q_e$  et  $C_e$  à basse concentration.

### III.2.4. CONCLUSION

La réalisation d'équilibre isothermes d'adsorption à haute et basse concentrations en eau ultra pure a permis de montrer que seul le modèle de Langmuir-Freundlich a été systématiquement capable de représenter le comportement de l'adsorption des perturbateurs endocriniens sur une large gamme de concentration allant de la dizaine de  $\mu\text{g.L}^{-1}$  au  $\text{ng.L}^{-1}$ . Le modèle de Langmuir est utilisable également mais son taux de réussite n'est que de 50 %. Le modèle de Freundlich est inadapté.

Pour le modèle LF, et parfois le modèle L, il existe par conséquent un jeu de valeurs de paramètres qui permet de représenter à la fois les hautes concentrations et les basses concentrations. Toute la difficulté réside donc à être en mesure de déterminer ce jeu de valeurs à partir uniquement des données expérimentales à haute concentration.

Les deux modèles (LF et L) ont, à l'occasion, conduit à des résultats intéressants en extrapolation basse concentration après ajustement à haute concentration. Cependant, ces extrapolations sont parfois à la limite de ce qui est acceptable en termes d'incertitude, et le meilleur ajustement n'est pas forcément obtenu avec le meilleur modèle global.

La conclusion précédente est confirmée : le nombre de manipulations à haute concentration qui ont été effectuées pour un couple polluant/charbon lors de ces essais, s'avère trop limité. Il ne permet pas de fiabiliser le processus. On ne peut pas garantir systématiquement l'extrapolabilité avec une incertitude raisonnable. Le nombre de manipulations devra être renforcé, probablement avec des niveaux de concentration intermédiaires, afin de focaliser un peu plus certains paramètres, en particulier  $1/n$ .

Dans la suite de l'étude, les paramètres des deux modèles (LF et L) et les deux types d'ajustement seront utilisés pour simuler et prédire les équilibres d'adsorption en compétition.

### III.3. EQUILIBRES ISOTHERMES D'ADSORPTION EN COMPETITION

#### III.3.1. INTRODUCTION

Dans cette partie, nous nous intéresserons aux équilibres isothermes d'adsorption en eau naturelle. La démarche suivie restera identique à celle de la partie consacrée à l'adsorption en corps pur. Le modèle IAST associé au concept de l'EBC permet de simuler l'adsorption dans l'eau naturelle. Ce modèle a souvent été utilisé avec succès, notamment pour la simulation de l'adsorption de perturbateurs endocriniens (Knappe *et al.*, 1998; Yu *et al.*, 2008). Cependant, ces études ont été effectuées sur des domaines restreints de concentration. Ainsi, l'objectif de notre étude est d'évaluer la capacité de simulation sur une plage de concentration plus large et d'extrapolation aux basses concentrations du composé cible du modèle d'adsorption compétitive. Les modèles de Langmuir et de Langmuir-Freundlich, ajustés sur les données haute concentration, ont montré dans la première partie de l'étude qu'ils pouvaient permettre une prédiction satisfaisante des capacités d'adsorption en solution pure, le modèle de Langmuir-Freundlich étant celui permettant la description au mieux du phénomène d'adsorption des composés étudiés sur un large domaine de concentration. Ces modèles et ajustements seront utilisés pour représenter les composés cibles dans la modélisation IAST des isothermes en eau naturelle, et les modèles corps pur de Freundlich, de Langmuir et de Langmuir-Freundlich seront testés pour l'EBC. Ainsi, trois types d'ajustement seront testés :

- un ajustement uniquement à haute concentration, tant sur les données corps pur que pour la compétition, dans le but d'évaluer l'extrapolation totale des capacités d'adsorption par le modèle IAST-EBC, c'est-à-dire sans aucune manipulation à basse concentration. Ces ajustements seront notés CP HC-C HC pour « corps pur haute concentration et compétition haute concentration »,
- un ajustement à haute et basse concentrations pour le composé cible et uniquement à haute concentration pour la compétition, et ainsi évaluer les capacités d'extrapolation propre au modèle IAST. Ces ajustements seront notés CP T-C HC pour « corps pur gamme totale de concentration et compétition haute concentration »,
- un ajustement avec toutes les données disponibles à haute et basse concentrations sur les données corps pur et en compétition, afin d'estimer l'erreur globale minimale. Cela permettra d'obtenir un point de référence pour les extrapolations, et d'évaluer dans quelle mesure l'approche IAST-EBC est capable de décrire l'adsorption sur une large

plage de concentration. Ils seront notés CP T-C T pour « corps pur gamme totale de concentration et compétition gamme totale de concentration ».

Deux types d'eau naturelle ont été testés : l'eau d'un puits de Rennes, pour laquelle les quatre couples polluant/charbon ont été testés, et l'eau de la rivière Le Meu, pour laquelle seul le charbon F400 a été testé avec les deux perturbateurs endocriniens. Ceci représente un total de six triplets polluant/charbon/eau naturelle.

### III.3.2. ISOTHERMES D'ADSORPTION EN COMPETITION A HAUTE CONCENTRATION

L'effet de compétition de la Matière Organique Naturelle, MON, sur l'adsorption de chaque perturbateur endocrinien a été étudié en effectuant les isothermes dans l'eau naturelle et dans la même eau naturelle diluée à 50 % par de l'eau ultra pure. La dilution permet de différencier l'effet de la nature de la MON de l'effet de sa concentration (Gicquel, 1996). Les isothermes d'adsorption obtenues pour les six triplets polluant/charbon/eau naturelle sont présentées et comparées aux isothermes corps pur dans la figure III.14.

L'observation des capacités d'adsorption confirme que la MON engendre une diminution de la quantité adsorbée. Lorsque l'on compare les isothermes a et c de la figure III.14 avec les isothermes b et d, on remarque que pour un même charbon et un même type d'eau naturelle, l'effet de compétition est supérieur pour le bisphénol A. Nous avons vu qu'en solution pure le plastifiant est moins adsorbé que l'hormone, ce comportement semble être accentué en conditions de compétition. La différence d'hydrophobicité peut également être à l'origine de ce comportement : la matière organique naturelle comporte une large gamme de molécules allant des petites molécules hydrophiles à de grosses macromolécules hydrophobes. Il est donc possible d'envisager que la fraction de MON plus hydrophobe que la molécule cible, et donc ayant plus d'affinité pour les charbons actifs, est plus importante dans le cas du Bisphénol A que dans le cas de l'Éthinylestradiol.

Les isothermes d et f montrent que la nature de la MON peut avoir un impact sur l'effet de compétition. Les molécules qui constituent la matière organique naturelle sont nombreuses et variées, et cette composition change d'un type d'eau à un autre. En particulier, l'eau du puits, dont le niveau n'est qu'à 3-4 mètres de profondeur, a été filtrée par le sol mais est relativement « jeune ».

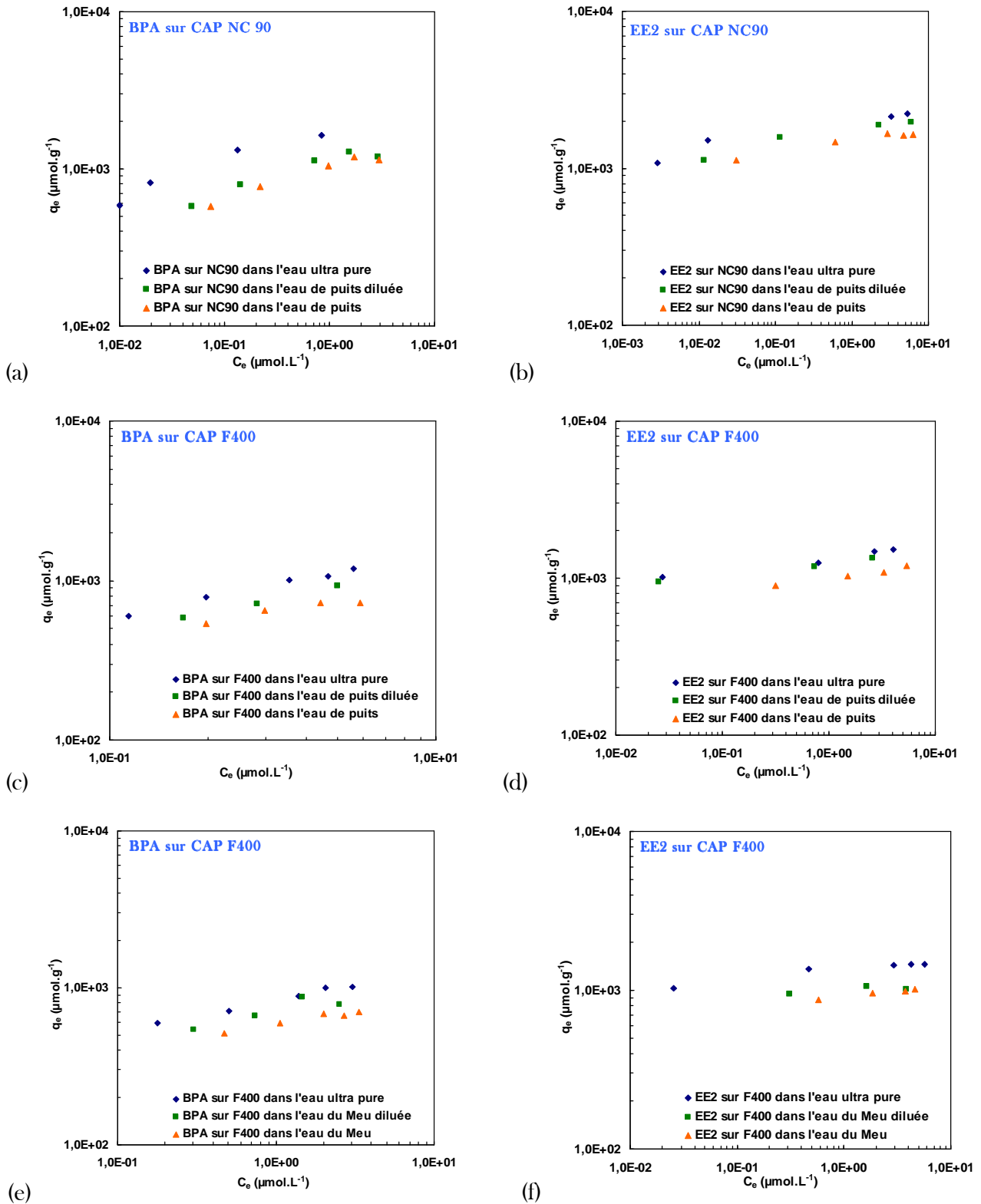


Figure III.14 Equilibre d'adsorption du bisphénol A et de l'éthinylestradiol sur les charbons actifs F400 et NC 90 dans l'eau ultra pure, dans deux eaux naturelles et dans ces eaux diluées à 50% par de l'eau ultra pure.

On peut donc supposer que les molécules les plus hydrophobes se soient fixées préférentiellement dans le sol. L'eau naturelle provenant du Meu contient donc

vraisemblablement des molécules pouvant créer une compétition supérieure à celles de l'eau de puits vis-à-vis de l'adsorption de l'éthinylestradiol. Le bisphénol A étant plus sensible à la présence d'un plus grand nombre de molécules que l'hormone de synthèse, la légère différence entre ces deux eaux due à la diminution de la quantité de certaines d'entre elles ne suffit pas pour induire un changement significatif dans les capacités d'adsorption d'un type d'eau naturelle à l'autre (isothermes c et e).

De plus, la comparaison des isothermes a et c, et b et d entre eux permet de penser que la diminution de capacités d'adsorption est différente d'un charbon à l'autre. Cette observation confirme que l'adsorption compétitive ne dépend pas seulement de la nature de la MON mais aussi des caractéristiques du charbon telles que la distribution des pores (Newcombe *et al.*, 2002).

### III.3.3. ISOTHERMES D'ADSORPTION A BASSE CONCENTRATION ET AJUSTEMENT SUR LA GAMME TOTALE DE CONCENTRATION

#### III.3.3.1. Adsorption compétitive à basse concentration

Compte tenu des très faibles concentrations des perturbateurs endocriniens présents dans l'environnement aquatique, il est nécessaire d'étudier les capacités d'adsorption des charbons en conditions de compétition à ce niveau de concentration. Il a été montré que la MON a un effet de compétition plus important lorsque le composé cible est très dilué (Najm *et al.*, 1991; Knappe *et al.*, 1998), c'est-à-dire que pour une même eau naturelle, plus la concentration du composé cible est faible, plus la MON affectera son adsorption à la surface du charbon. Les manipulations à basse concentration ont été effectuées afin d'étudier l'effet de la MON (Figure III.15), de vérifier la justesse d'extrapolation du modèle IAST, et à terme de valider l'outil de prédiction.

Les isothermes d'adsorption confirment que, pour un même couple polluant/charbon dans l'eau naturelle, la diminution des capacités d'adsorption est plus importante lorsque la concentration du micropolluant est de l'ordre du  $\text{ng.L}^{-1}$ . L'effet de compétition est plus important à basse concentration car le micropolluant est 1000 fois plus dilué qu'à haute concentration alors que la concentration du carbone organique total, et donc l'EBC, reste constante : il y a proportionnellement 1000 fois plus de MON lorsque le micropolluant est dilué, et donc plus de compétition pour le même nombre limité de sites pour l'adsorption du composé cible. Les isothermes c, d, e et f semblent indiquer également que le type d'eau naturelle n'a plus autant d'impact sur l'adsorption à basse concentration.

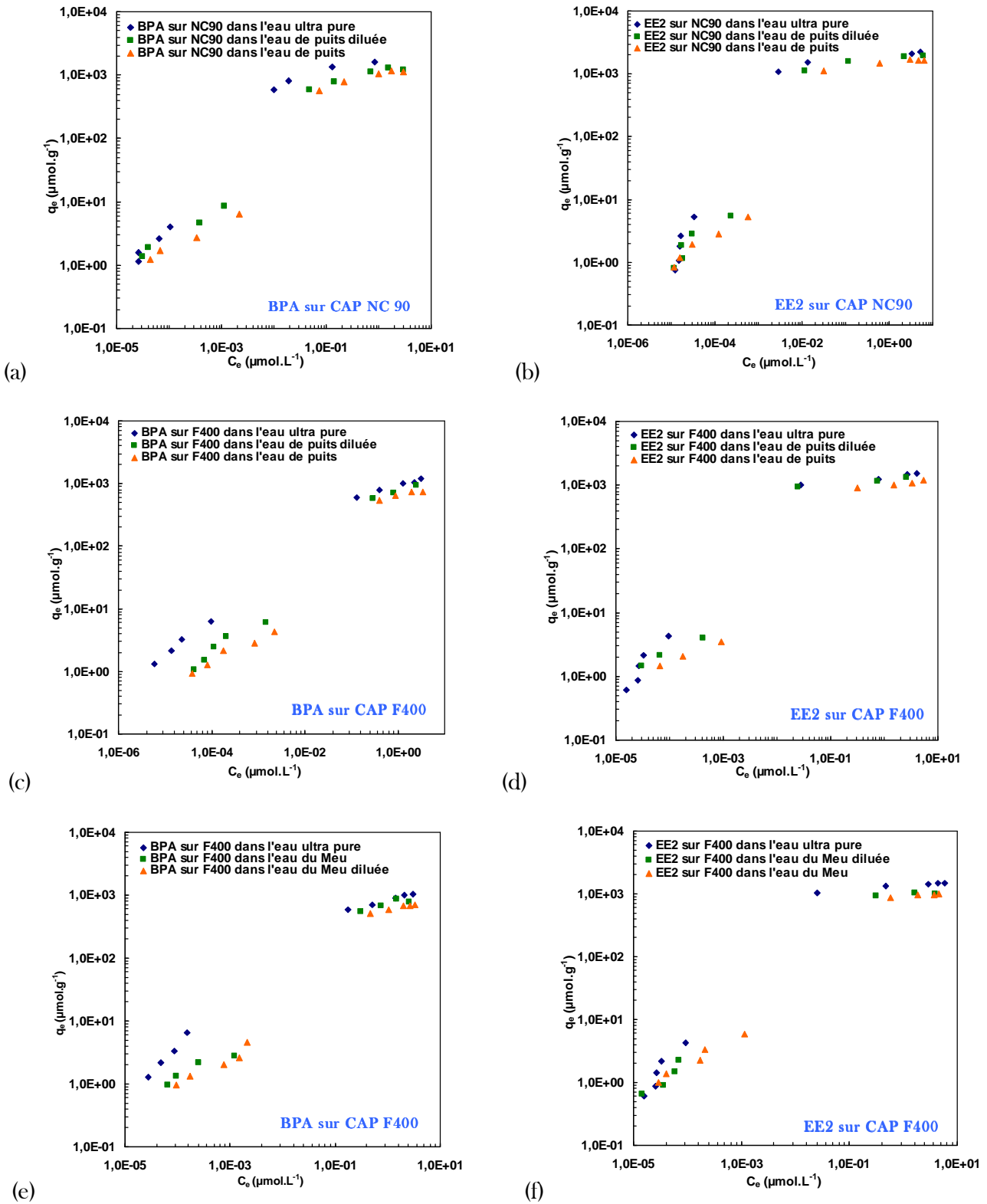


Figure III.15 Equilibre d'adsorption sur la gamme totale de concentration du bisphénol A et de l'éthinylestradiol sur les charbons actifs F400 et NC 90 dans l'eau ultra pure, dans deux eaux naturelles et dans ces eaux diluées à 50 % par de l'eau ultra-pure.



### III.3.3.2. Ajustement du modèle IAST-EBC sur les deux gammes de concentration des perturbateurs endocriniens

Pour les six triplets, le modèle de Langmuir-Freundlich ajusté sur la gamme totale de concentration (CP T) a été utilisé pour représenter l'équilibre d'adsorption du composé cible dans la simulation IAST des isothermes globales en eau naturelle et eau naturelle diluée. Et pour chaque triplet, les modèles de Freundlich, de Langmuir et de Langmuir-Freundlich ont été testés pour représenter l'EBC. La figure III.16 donne pour les six triplets, la meilleure des trois simulations des isothermes sur la gamme globale de concentration par le modèle IAST-EBC. Les erreurs moyennes des modèles IAST-EBC, calculées selon l'équation 3.5, sont présentées dans le tableau III.11.

Tableau III.11 Erreur moyenne de l'IAST avec l'EBC ajusté sur la gamme totale de concentration pour la simulation de l'adsorption du bisphénol A et de l'éthinylestradiol sur les charbons actifs F400 et NC 90

Modèles Corps pur Cible-EBC	Ajustements Cible-EBC	Erreur moyenne de l'IAST-EBC sur la gamme totale de concentration $E_T$ (%)					
		Eau de puits				Eau du Meu	
		BPA/NC 90	BPA/F400	EE2/F400	EE2/NC 90	BPA/F400	EE2/F400
LF-L	CP T-C T	20	18	27	40	16	35
LF-F	CP T-C T	26	49	38	40	25	39
LF-LF	CP T-C T	20	18	25	30	18	34

LF-L: Langmuir-Freundlich–Langmuir; LF-F: Langmuir-Freundlich–Freundlich; LF-LF: Langmuir-Freundlich–Langmuir-Freundlich  
 CP: corps pur; C: compétition; T: gamme totale

Les résultats dans le tableau III.11 montre, avec les meilleures erreurs moyennes par triplet de l'ordre de 15 à 35 %, que l'approche consistant à modéliser la compétition à haute et à basse concentration par un seul et même modèle IAST-EBC est tout à fait envisageable. L'objectif sera donc de réduire l'effort expérimental en minimisant les pertes en précision.

Les modèles de Langmuir et de Langmuir-Freundlich utilisés pour représenter l'équilibre d'adsorption de l'EBC dans l'approche IAST donnent les meilleures simulations des isothermes en compétition sur la gamme totale de concentration. L'IAST a correctement reproduit l'effet supérieur de compétition de la MON lorsque le composé cible est très dilué.

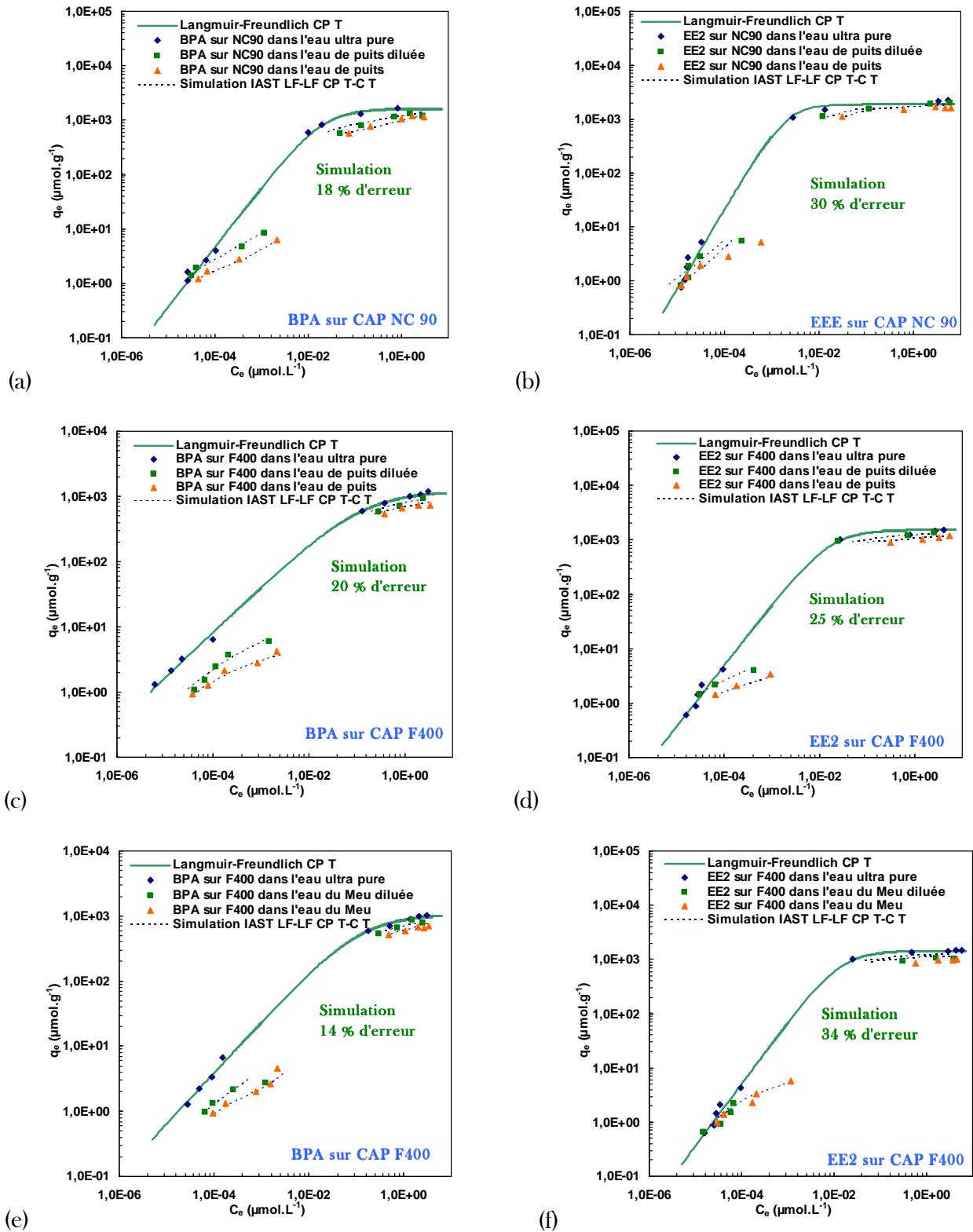


Figure III.16 Equilibre d'adsorption sur la gamme totale de concentration du bisphénol A et de l'éthinylestradiol sur les charbons actifs F400 et NC 90 dans l'eau ultra pure, dans deux eaux naturelles et dans ces eaux diluées à 50% par de l'eau ultra-pure, et simulation des capacités d'adsorption

Le modèle de Freundlich a souvent été sollicité pour représenter l'EBC dans des simulations par l'approche IAST d'équilibres d'adsorption sur des domaines restreints de concentration, en particulier en raison de sa simplicité de mise en œuvre. Ici, bien que sur ce large domaine, la concentration de l'EBC ne varie pas, le modèle de Freundlich est le moins adapté pour représenter la MON dans la simulation de l'adsorption des composés cibles dans l'eau naturelle. En effet, l'utilisation de ce modèle conduit aux erreurs globales les plus élevées, quel que soit le triplet.

L'erreur de la simulation est du même ordre quel que soit le type d'eau naturelle. On notera cependant que l'ajustement a été un peu plus difficile pour l'effet de compétition sur l'adsorption de l'EE2. Dans l'ensemble, ces observations nous permettent de déduire une certaine robustesse de l'approche IAST-EBC.

### III.3.3.3. Discussion des paramètres d'équilibre de l'EBC

Les paramètres d'adsorption de l'EBC sont optimisés par la minimisation de l'écart entre les données expérimentales et calculées. Dans cette partie de l'étude, les données d'adsorption en compétition à haute et basse concentrations ont été utilisées, conduisant à la simulation des équilibres d'adsorption sur la gamme totale, et à l'obtention des paramètres d'équilibre de l'EBC. Ces paramètres traduisent l'effet de compétition de la MON sur les composés cibles et indirectement son adsorption, sur la gamme totale de concentration.

Tableau III.12 Paramètres du modèle de Langmuir-Freundlich pour l'EBC dans la simulation du modèle IAST ajusté sur la gamme totale de concentration

<b>Paramètres d'adsorption LF de l'EBC pour l'ajustement IAST-EBC C P T - C T</b>				
	<b><math>q_{m,EBC}</math> (<math>\mu\text{mol.g}^{-1}</math>)</b>	<b><math>b_{EBC}</math></b>	<b><math>1/n_{EBC}</math></b>	<b><math>C_{0,EBC}</math> (<math>\mu\text{mol.L}^{-1}</math>)</b>
<i>Puits</i>				
BPA/NC 90	1944	2,76	1,00	1,87
BPA/F400	932	11,60	1,10	7,68
EE2/NC 90	2429	0,24	0,35	6,77
EE2/F400	1969	6,30	1,05	4,32
<i>Rivière Le Meu</i>				
BPA/F400	1348	1.71	1,01	4.89
EE2/F400	2288	6,38	0,65	2,44

Les paramètres de l'EBC qui ont permis les simulations les plus justes sont donnés dans le tableau III.12. A l'image des observations qui ont été effectuées pour l'adsorption en corps

pur, les capacités d'adsorption de l'EBC varient d'un charbon à un autre. La même tendance est retrouvée puisque pour l'eau de puits, les capacités maximales d'adsorption de l'EBC les plus importantes sont relatives au charbon NC 90. Celui-ci développe une surface spécifique supérieure à celle du charbon F400, l'EBC peut donc s'y adsorber en plus grande quantité.

De plus, les valeurs de  $q_m$  de l'EBC sont fonctions du composé cible avec lequel il entre en compétition. En effet, les capacités d'adsorption maximale de l'EBC de l'éthinylestradiol sont supérieures à celle de l'EBC du bisphénol A. L'EBC représente la fraction de la matière organique qui entre réellement en compétition avec le composé cible. Une valeur du  $q_m$  de l'EBC de l'éthinylestradiol supérieure à celle de l'EBC du bisphénol A suggère que l'EE2 et donc son EBC s'adsorbent sur un plus grand nombre de sites et donc des sites de nature plus diversifiée. Cela est sans doute lié à une plus grande diversité fonctionnelle de la molécule d'EE2 par rapport au BPA. Cette idée est renforcée par les valeurs de  $(1/n)$  qui indiquent une distribution des énergies d'adsorption de l'EBC plus large dans le cas de la compétition avec l'EE2. Enfin, la capacité maximale d'adsorption de l'EBC du couple BPA/F400 ne semble pas évoluer de façon significative d'un type d'eau naturelle à un autre. En revanche, dans le cas du couple EE2/F400, l'augmentation du  $q_m$  d'environ 15 % peut être considérée significative. Cette augmentation peut traduire une compétition de la MON de l'eau du Meu supérieure vis-à-vis de l'EE2. Ces valeurs de  $q_m$  peuvent expliquer les observations faites dans le chapitre III.3.2.1. En effet, la comparaison des isothermes d'adsorption en eau naturelle à haute concentration n'a montré aucun changement significatif dans le phénomène de compétition à l'adsorption du BPA sur le charbon F400, d'un type d'eau naturelle à l'autre, alors qu'une augmentation de l'effet de compétition à l'adsorption de l'hormone sur le même charbon a été observée.

La concentration initiale de l'EBC a également été déterminée par optimisation. Les résultats du tableau III.12 indiquent que la concentration des molécules de la matière organique entrant en compétition avec les composés cibles varie assez peu dans l'ensemble, de  $1,87 \mu\text{mol.L}^{-1}$  à  $7,68 \mu\text{mol.L}^{-1}$ . Elles sont du même ordre de grandeur que les concentrations initiales des perturbateurs endocriniens lors des essais à haute concentration, et donc 1000 fois plus élevées que les concentrations initiales lors des essais à basse concentration.

#### III.3.3.4. Conclusion

Les équilibres isothermes d'adsorption effectués dans l'eau naturelle à basse concentration ont confirmé que la compétition de la matière organique est plus forte lorsque le composé cible est très dilué. La simulation des isothermes globales a montré que l'approche IAST associée au

concept de l'EBC permet de décrire le phénomène d'adsorption des perturbateurs endocriniens étudiés à haute comme à basse concentration. Le modèle de Langmuir-Freundlich utilisé pour représenter les équilibres du polluant et de l'EBC permet d'obtenir les simulations les plus justes, avec moins de 34 % d'erreur moyenne.

### III.3.4. EXTRAPOLATION PARTIELLE DES CAPACITES D'ADSORPTION ET EVALUATION DE L'ERREUR D'EXTRAPOLATION DU MODELE IAST-EBC

#### III.3.4.1. Introduction

Nous allons nous intéresser maintenant à la justesse de l'extrapolation aux basses concentrations de ce modèle. Est-il capable, à partir des données d'adsorption en compétition à haute concentration, de prédire l'effet de la MON avec justesse ? Et, quels sont les modèles corps pur représentant l'EBC qui permettent l'extrapolation la plus juste ? Pour répondre à ces questions, nous minimiserons l'erreur introduite par le modèle corps pur de la molécule cible en prenant le modèle qui a généré le moins d'erreur dans la simulation de l'adsorption corps pur sur la gamme totale de concentration, quel que soit le couple charbon/polluant considéré : le modèle de Langmuir-Freundlich. Ce faisant, cela nous permettra de focaliser notre étude sur l'erreur créée spécifiquement par l'approche IAST-EBC dans le cadre d'une extrapolation. Les modèles de Freundlich, de Langmuir et de Langmuir-Freundlich seront testés pour représenter l'EBC, dont les paramètres seront cette fois déterminés par ajustement du modèle IAST-EBC uniquement sur les données à haute concentration des équilibres d'adsorption en compétition.

#### III.3.4.2. Paramètres de l'EBC

Dans cette partie de l'étude, les paramètres d'adsorption de l'EBC sont obtenus de l'ajustement du modèle IAST-EBC sur les données d'adsorption en compétition uniquement à haute concentration. Ils sont ensuite utilisés avec les paramètres du composé cible pour prédire les capacités d'adsorption dans l'eau naturelle et l'eau naturelle diluée à basse concentration. Le modèle et les paramètres d'équilibre corps pur du composé cible restent identiques pour la simulation et l'extrapolation partielle (modèle LF CP T). Néanmoins, on peut s'attendre à une erreur d'extrapolation à basse concentration différente *a priori* supérieure- de l'erreur de la simulation.

### III.3.4.3. Extrapolation des capacités d'adsorption

Les résultats présentés dans cette partie permettent d'étudier les capacités d'extrapolation du modèle d'adsorption compétitive IAST-EBC et, dans le cadre de la mise en place de l'outil d'extrapolation, d'évaluer l'erreur effectuée sur les capacités d'adsorption lorsque les manipulations d'adsorption compétitive à basse concentration ne sont pas réalisées.

Le tableau III.13 donne pour chaque triplet et chaque modèle corps pur pour l'EBC, les erreurs moyennes d'extrapolation des capacités d'adsorption en eau naturelle et eau naturelle diluée.

Tableau III.13 Erreur moyenne de l'extrapolation partielle à basse concentration de l'adsorption du bisphénol A et de l'éthinylestradiol sur les charbons actifs F400 et NC 90 par l'approche IAST-EBC

Modèle Corps pur	Ajustements	Erreur d'extrapolation l'IAST-EBC à basse concentration $E_{BC}$ (%)							
		Eau de puits				Eau du Meu			
		Cible-EBC	Cible-EBC	BPA/NC 90	BPA/F400	EE2/F400	EE2/NC 90	BPA/F400	EE2/F400
LF-L	CP T-C HC			47	134	110	59	65	93
LF-F	CP T-C HC			118	319	39	28	156	57
LF-LF	CP T-C HC			161	348	43	68	168	1019

LF-L: Langmuir-Freundlich–Langmuir; LF-F: Langmuir-Freundlich–Freundlich; LF-LF: Langmuir-Freundlich–Langmuir-Freundlich  
 CP: corps pur; C: compétition; T: gamme totale

Contrairement aux résultats obtenus dans le cas de la simulation sur la gamme totale de concentration, les résultats sont mitigés. Néanmoins, il est possible d'observer que, à l'instar des résultats obtenus en corps pur, le modèle de Langmuir-Freundlich pour l'EBC n'apparaît pas comme celui qui permet l'extrapolation la plus juste, alors qu'il donnait les meilleurs résultats lors de l'ajustement global. Dans les six cas, ce modèle associé à l'approche IAST-EBC conduit même aux erreurs les plus élevées allant de 43 % à 1019 %. Les modèles de Langmuir et de Freundlich conduisent chacun à l'erreur d'extrapolation la plus faible dans trois cas sur six.

La figure III.17 montre pour les six triplets, les isothermes d'adsorption compétitive simulées à haute concentration et extrapolées à basse concentration avec l'erreur la plus faible. Pour les couples BPA/NC 90 et BPA/F400 (dans les deux types d'eau naturelle), la prédiction de l'effet de compétition supérieur à basse concentration est relativement juste - bien que quelque peu surestimé pour le triplet BPA/F400/eau de puits. De même, l'effet moins marqué de la compétition de la MON dans le cas des isothermes d'adsorption de l'EE2 est prédit de façon tout aussi satisfaisante, au regard des erreurs d'extrapolation. Pour le triplet EE2/F400/eau du

Meu, un dysfonctionnement dans le calcul des données basse concentration n'a pas permis d'obtenir les isothermes extrapolées sur tout le domaine des basses concentrations.

Face aux modèles L et F, capables de générer l'erreur d'extrapolation la plus faible, les résultats peuvent être exploités de deux manières. Soit nous comparons au cas par cas l'erreur d'extrapolation la plus faible, quelque soit le modèle de l'EBC, avec l'erreur de l'ajustement global sur les mêmes points basse concentration du modèle IAST-EBC correspondant, ce qui nous permettra d'attribuer une erreur moyenne d'extrapolation spécifique à l'approche IAST-EBC. Soit nous considérons le besoin de l'utilisateur de l'outil d'extrapolation qui doit sélectionner un modèle pour l'EBC sans avoir les expériences à basse concentration pour valider les résultats. L'idée est donc de déterminer le modèle corps pur représentant l'EBC qui conduit à l'erreur d'extrapolation moyenne, sur les six cas, la plus faible, que celui-ci soit au cas par cas le meilleur modèle ou non.

#### Erreur de l'approche IAST

Le tableau III.14 donne pour chaque triplet, l'erreur d'extrapolation la plus faible obtenue, l'erreur obtenue à basse concentration lorsque le modèle IAST-EBC est ajusté sur la gamme totale de concentration ainsi que leur ratio. Au regard des résultats obtenus, il semble que l'approche IAST-EBC soit en mesure d'extrapoler de manière acceptable, compte tenu de toutes les diverses sources d'incertitude, les capacités d'adsorption des perturbateurs endocriniens étudiés. En effet, avec une valeur moyenne de 60 %, l'erreur d'extrapolation des capacités d'adsorption à basse concentration n'est que multipliée par un facteur moyen de 3 par rapport à l'erreur d'ajustement. C'est un résultat intéressant. Il faut en effet rappeler que pour l'extrapolation des capacités des composés en eau ultra-pure, l'accroissement de l'erreur allait, dans le meilleur des cas : celui du modèle de Langmuir, d'un facteur 4,6 à 11,4 (§ III.2.3.1). Néanmoins, 60 % d'erreur reste important et il est possible que des manipulations supplémentaires lors du paramétrage du modèle IAST-EBC puissent améliorer les performances d'extrapolation.

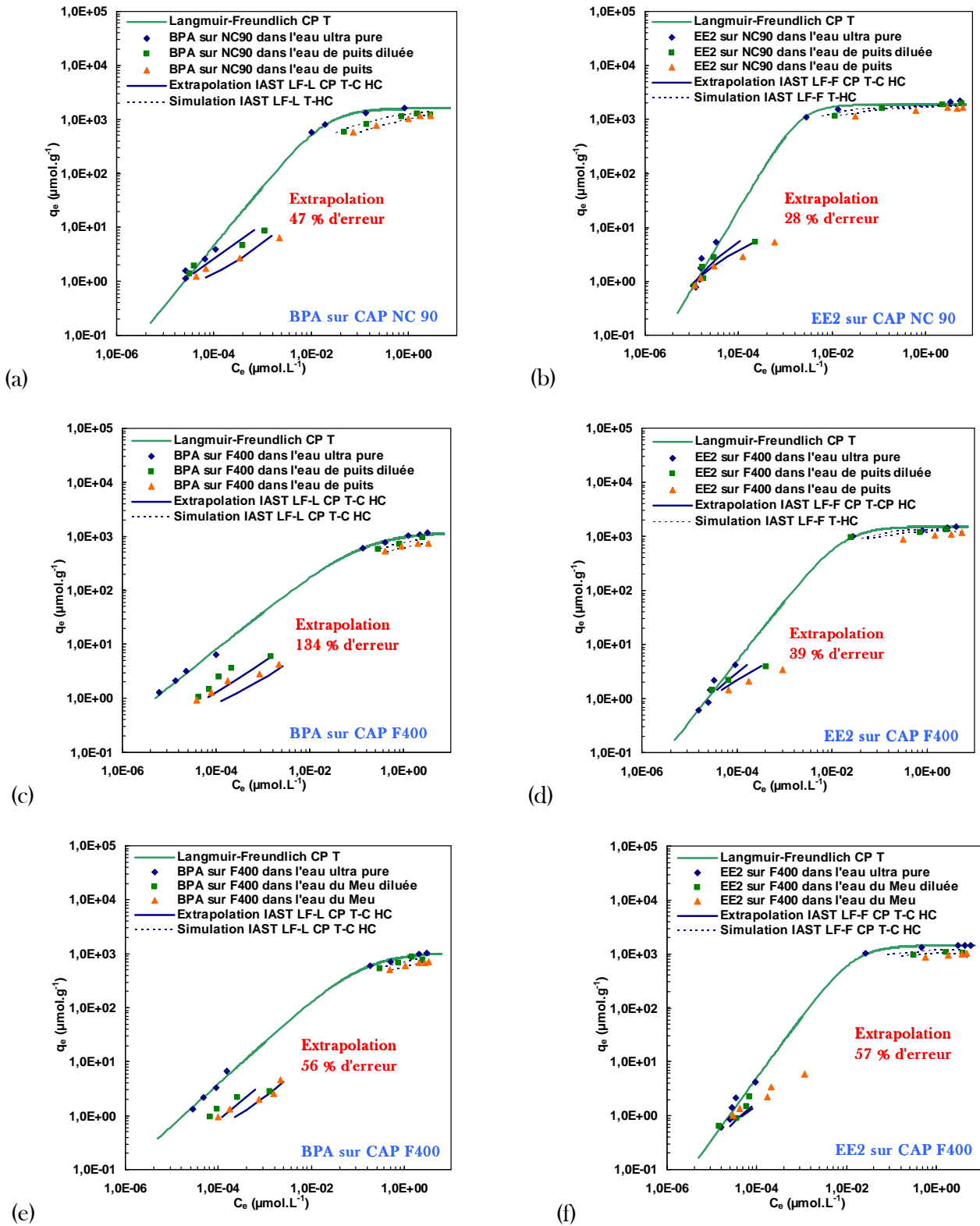


Figure III.17 Equilibre d'adsorption sur la gamme totale de concentration du bisphénol A et de l'éthinylestradiol sur les charbons actifs F400 et NC 90 dans l'eau ultra pure, dans deux eaux naturelles et dans ces eaux diluées à 50% par de l'eau ultra-pure, et extrapolation partielle des capacités d'adsorption



Tableau III.14 Comparaison entre l'erreur moyenne de l'extrapolation partielle à basse concentration et l'erreur de l'ajustement global de l'adsorption du bisphénol A et de l'éthinylestradiol sur les charbons actifs F400 et NC 90 par l'approche IAST-EBC

Erreurs à basse concentration	Eau de puits				Eau du Meu	
	BPA/NC 90	BPA/F400	EE2/F400	EE2/NC 90	BPA/F400	EE2/F400
$E_{BC\ CP\ T-C\ HC}$	47	134	39	28	65	57
$E_{BC\ CP\ T-C\ T}$	15	19	27	31	20	25
Ratio	3,1	7,1	1,4	0,9	3,25	2,3

CP: corps pur; C: compétition; HC : haute concentration ; T: gamme totale

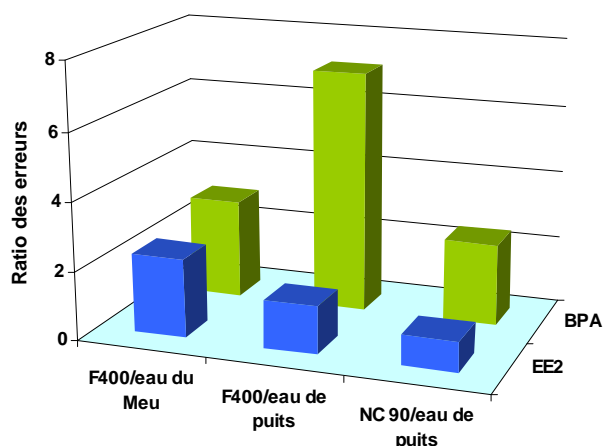


Figure III.18 Comparaison des ratios des erreurs d'extrapolation partielle et de simulation à basse concentration du bisphénol A et de l'éthinylestradiol sur les charbons actifs F400 et NC 90 dans l'eau de puits et l'eau du Meu

Les résultats du tableau III.13 montrent que, quel que soit le type d'eau naturelle, l'extrapolation des capacités d'adsorption reste du même ordre de grandeur et se comporte de la même façon. Avec l'eau du Meu, la plus faible erreur d'extrapolation pour le couple impliquant le bisphénol A est obtenue lorsque le modèle de Langmuir représente l'EBC, et le ratio des erreurs de l'extrapolation et de simulation est légèrement supérieur à celui du couple impliquant l'EE2 (avec le modèle de Freundlich pour représenter l'équilibre de l'EBC).

#### Modèle corps pur de l'EBC pour la meilleure extrapolation

Dans le cadre de la mise en place de la méthodologie de prévision des capacités d'adsorption, nous devons, à l'aide des manipulations que nous avons effectuées à basse concentration, déterminer le modèle corps de l'EBC à associer à l'IAST qui conduira un futur utilisateur à l'extrapolation la plus juste. Nous avons vu que les modèles de Freundlich et de

Langmuir se partagent ce rôle, à raison de trois cas sur six chacun. Face à cette observation, le calcul de l'erreur moyenne d'extrapolation permettra d'orienter sur le modèle permettant l'extrapolation globalement la plus juste. Ainsi, les valeurs données dans le tableau III.13 permettent de calculer une erreur moyenne d'extrapolation de 85 % lorsque le modèle de Langmuir est utilisé pour représenter l'EBC, et une erreur de 120 % dans le cas du modèle de Freundlich. La différence n'est cependant pas énorme.

Des manipulations supplémentaires sont souhaitables pour confirmer cette conclusion, d'autant plus qu'il semblerait que le composé cible ait une influence sur le modèle corps pur de l'EBC qui conduira à la meilleure extrapolation. D'autre part, il est probable que le manque d'information n'ait pas permis de trouver à haute concentration de valeurs suffisamment bonnes des trois paramètres pour le modèle LF, mais nous savons par l'ajustement global qu'il est tout aussi bon que le modèle de Langmuir, et même meilleur que le modèle de Freundlich, lorsqu'il est ajusté sur suffisamment de données. Ainsi, en fonction des composés à éliminer, le modèle de Freundlich -voire de Langmuir-Freundlich pourrait s'avérer être plus indiqué. Néanmoins à ce stade, sur les deux molécules cibles, les deux charbons actifs et les deux types d'eau testés, l'utilisation des modèles de Langmuir et de Freundlich a conduit à des extrapolations proches et satisfaisantes.

#### III.3.4.4. Conclusion

L'effet de compétition plus ou moins marqué de la MON sur l'adsorption des composés cibles a été prédit de manière satisfaisante, pour les triplets étudiés. L'approche IAST-EBC s'est avérée être un outil d'extrapolation des capacités d'adsorption en compétition prometteur puisqu'elle a montré une erreur moyenne d'extrapolation de 60 % et ne multiplie l'erreur à basse concentration que par un facteur moyen de 3. L'ajustement du modèle IAST-EBC sur les données compétition uniquement à haute concentration a généré des paramètres de l'EBC pouvant être utilisés pour le calcul des capacités d'adsorption à basse concentration. Dans le cadre de la mise en place de l'outil de prédiction, les résultats ont montré que le modèle de Langmuir, utilisé pour représenter l'équilibre de l'EBC, conduit à l'erreur moyenne d'extrapolation la plus faible. Des manipulations supplémentaires sont nécessaires afin de confirmer ce résultat, d'autant plus que le type de molécule cible semblerait avoir une influence sur le type de modèle corps associé à l'EBC qui conduirait à l'erreur d'extrapolation la plus faible.

### III.3.5. EXTRAPOLATION TOTALE DES CAPACITES D'ADSORPTION A BASSE CONCENTRATION

#### III.3.5.1. Introduction

Cette partie est dédiée à l'évaluation de l'erreur d'extrapolation des capacités d'adsorption en compétition par le modèle IAST-EBC lorsque les ajustements des modèles en corps pur et compétition sont effectués uniquement sur les données à haute concentration. La démarche est similaire à celle adoptée dans le chapitre consacré à l'extrapolation partielle (Chapitre III.3.4), c'est-à-dire calibrer le modèle d'adsorption compétitive IAST-EBC uniquement sur les manipulations (en compétition) à haute concentration, prédire par extrapolation les capacités d'adsorption à basse concentration et en évaluer les erreurs. La différence réside dans le fait que le modèle corps pur du composé cible associé à l'approche IAST-EBC n'a lui aussi été ajusté que sur les données haute concentration. Les paramètres de l'EBC optimisés dans ces conditions sont potentiellement différents de ceux obtenus dans les chapitres précédents. Ces nouveaux paramètres de l'EBC seront ensuite employés dans l'extrapolation des capacités d'adsorption. Le but de ce chapitre est de quantifier l'erreur de cette nouvelle extrapolation et de la confronter à l'erreur de l'extrapolation partielle ainsi qu'à l'erreur de la simulation à basse concentration. Vis-à-vis de l'erreur de l'approche IAST, il n'y a *a priori* pas de raison qu'elle soit différente de celle évaluée dans le chapitre précédent. En effet, du point de vue du modèle, rien ne change ici, sinon la valeur des paramètres d'adsorption du composé cible. En revanche, cette partie est essentielle pour la mise en place de l'outil d'extrapolation.

Les modèles corps pur utilisés pour représenter l'équilibre du composé cible dans l'approche IAST seront ceux ajustés sur les données à haute concentration uniquement et qui ont permis la meilleure extrapolation des capacités d'adsorption. Les modèles de Langmuir, de Freundlich et de Langmuir-Freundlich seront testés en tant que modèle corps pur pour l'EBC. Nous déterminerons ainsi l'erreur de l'extrapolation totale des capacités d'adsorption et le modèle représentant l'EBC conduisant à l'erreur la plus faible.

#### III.3.5.2. Extrapolation des capacités d'adsorption

Le tableau III.15 donne pour chaque triplet et chaque modèle corps pur pour l'EBC, les erreurs moyennes d'extrapolation des capacités d'adsorption en eau naturelle et eau naturelle diluée. Le modèle corps du composé cible utilisé est le modèle de Langmuir-Freundlich pour le couple BPA/F400 et le modèle de Langmuir dans les trois autres cas (Tableau III.6).

Tableau III.15 Erreur moyenne de l'extrapolation totale à basse concentration de l'adsorption du bisphénol A et de l'éthinylestradiol sur les charbons actifs F400 et NC 90 par l'approche IAST

Modèle	Erreur d'extrapolation l'IAST-EBC à basse concentration $E_{BC, CP HC-C HC}(\%)$					
	Eau de puits				Eau du Meu	
	BPA/NC 90	BPA/F400	EE2/F400	EE2/NC 90	BPA/F400	EE2/F400
Corps pur	$E_{BC,L-CP HC}$ -101 %	$E_{BC,LF-CP HC}$ -22,8 %	$E_{BC,L-CP HC}$ -212 %	$E_{BC,L-CP HC}$ -182 %	$E_{BC,LF-CP HC}$ -22,8 %	$E_{BC,L-CP HC}$ -212 %
EBC : L	41	154	71	87	73	122
EBC : F	556	326	40	30	161	132
EBC : LF	436	373	74	48	137	6671

LF-L: Langmuir-Freundlich–Langmuir; LF-F: Langmuir-Freundlich–Freundlich; LF-LF: Langmuir-Freundlich–Langmuir-Freundlich  
CP: corps pur; C: compétition; T: gamme totale

Le tableau III.15 montre une tendance des résultats très similaire à celle des résultats du chapitre précédent (Tableau III.13). En effet, les modèles de Langmuir et de Freundlich utilisés pour représenter l'EBC donnent chacun l'erreur d'extrapolation la plus faible dans les mêmes cas, sauf pour le triplet EE2/F400/Meu où la différence est maintenant très légèrement en faveur du modèle de Langmuir. La figure III.19 montre pour les six triplets, les isothermes d'adsorption en corps pur et en compétition simulées à haute concentration, et extrapolées à basse concentration avec l'erreur la plus faible. A l'instar des extrapolations effectuées précédemment, l'effet de compétition à basse concentration a été prédit globalement de façon satisfaisante quels que soient le composé cible, le type de charbon et d'eau naturelle, avec une erreur maximale d'extrapolation de 154 % et moyenne de 77 %. Ce qui est peu, car il faut se souvenir que les modèles corps purs des composés cibles avaient, à eux seuls, donné des résultats d'extrapolation très mitigés avec des erreurs d'extrapolation comprises entre 22,8 % ( $E_{BC,LF-CP HC}$  BPA/F400) à 212 % ( $E_{BC,L-CP HC}$  EE2/F400).

De la même manière que dans le chapitre précédent, nous analyserons l'erreur de l'approche IAST et nous déterminerons le modèle corps représentant l'EBC qui permet les extrapolations les plus justes.

### Erreur de l'approche IAST

Le tableau III.16 donne pour chaque triplet, l'erreur d'extrapolation totale la plus faible obtenue, l'erreur obtenue à basse concentration lorsque le modèle IAST-EBC est ajusté sur la gamme totale de concentration ainsi que leur ratio.

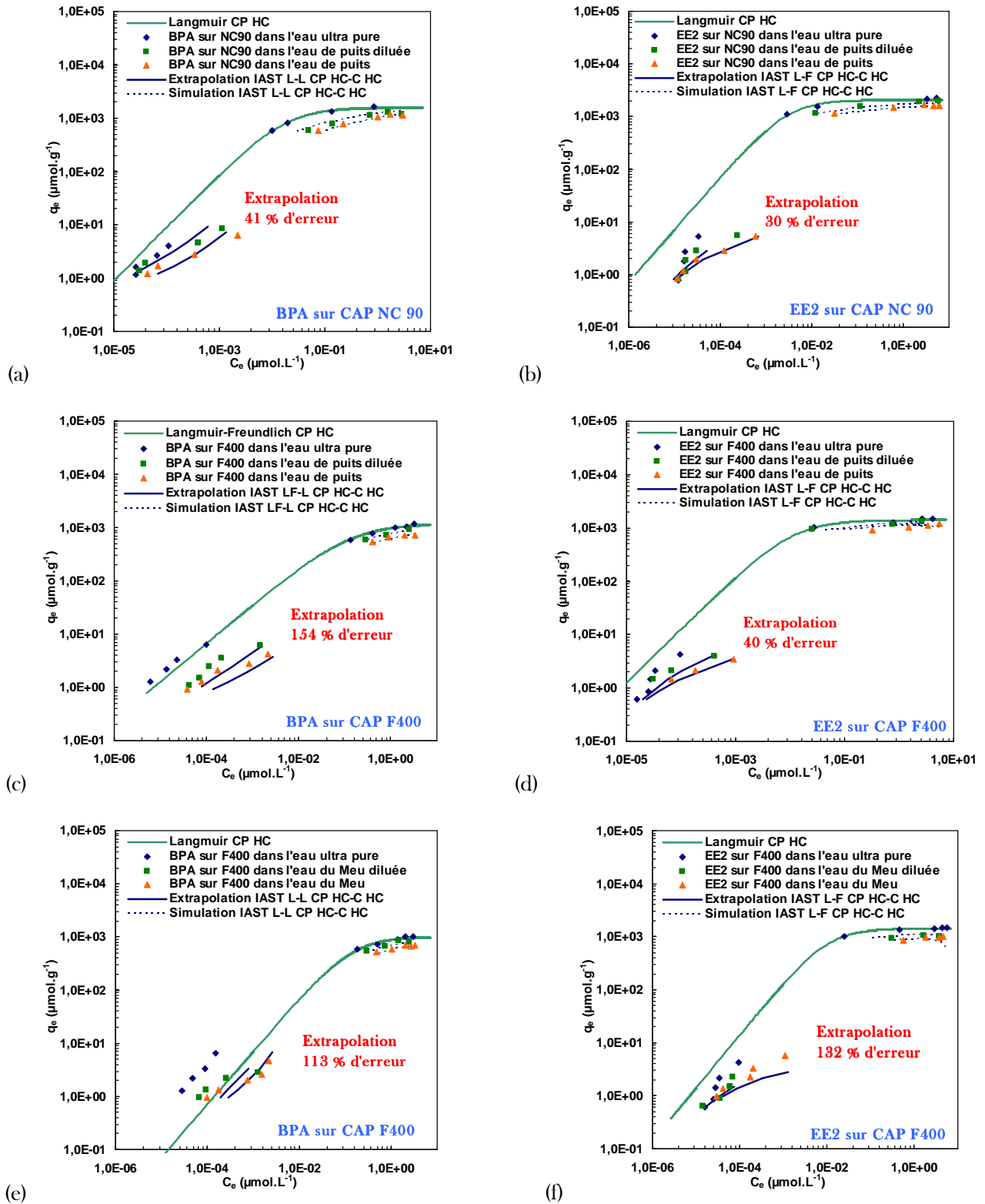


Figure III.19 Equilibre d'adsorption sur la gamme totale de concentration du bisphénol A et de l'éthinylestradiol sur les charbons actifs F400 et NC 90 dans l'eau ultra pure, dans deux eaux naturelles et dans ces eaux diluées à 50% par de l'eau ultra-pure, et extrapolation totale des capacités d'adsorption

Tableau III.16 Comparaison entre l'erreur moyenne de l'extrapolation totale à basse concentration et l'erreur de l'ajustement global de l'adsorption du bisphénol A et de l'éthinylestradiol sur les charbons actifs F400 et NC 90 par l'approche IAST-EBC

Erreur à basse concentration	Eau de puits				Eau du Meu	
	BPA/NC 90	BPA/F400	EE2/F400	EE2/NC 90	BPA/F400	EE2/F400
$E_{BC\ CP\ HC-C\ HC}$	41	154	40	30	73	132
$E_{BC\ CP\ T-C\ T}$	15	19	27	31	20	25
Ratio	2,7	8,1	1,5	1,0	3,65	5,3

CP: corps pur; C: compétition; HC : haute concentration ; T: gamme totale

Du point de vue qualitatif, quelques conclusions similaires peuvent être tirées des résultats. Il semble que les meilleures extrapolations de l'adsorption du bisphénol A, quels que soient le type d'eau naturelle et de charbon, soient obtenues lorsque le modèle de Langmuir représente l'équilibre de l'EBC. De même, pour l'extrapolation de l'adsorption en compétition de l'éthinylestradiol, les meilleurs résultats sont obtenus avec le modèle de Freundlich pour l'EBC. Et, les ratios des erreurs d'extrapolation et de simulation les plus faibles sont obtenues pour les triplets relatifs à l'EE2 dans l'eau de puits. En revanche, les valeurs de ratios des erreurs sont plus hétérogènes que dans le cas précédent, principalement en raison de l'augmentation des ratios des triplets relatifs l'eau du Meu. Il est possible que la nature de la MON rende plus délicate l'ajustement à haute concentration et ait donc une influence sur l'extrapolation totale des capacités d'adsorption en compétition. Dans le cas de l'extrapolation totale, l'approche IAST-EBC conduit à une erreur moyenne d'extrapolation de 85 % et un ratio moyen des erreurs extrapolation et de simulation de 3,7.

Analyser l'erreur d'extrapolation de l'approche IAST-EBC lorsqu'il associe le modèle corps pur du composé cible ajusté uniquement sur les données haute concentration semble contradictoire. En fait, cette analyse nous a permis de vérifier certaines hypothèses qui ont été émises précédemment. En effet, nous avons vu que de manière qualitative, l'approche IAST-EBC se comporte de la même façon dans les cas des extrapolations partielle et totale.

De même, bien que le changement d'ajustement du modèle corps pur pour le composé cible ne change rien de manière qualitative à l'approche IAST, nous n'avons constaté qu'une légère augmentation de l'erreur moyenne d'extrapolation (de 65 % à 85 %) et des ratios moyens des erreurs d'extrapolation et de simulation (de 3 à 3,7).

### Modèle corps pur de l'EBC pour la meilleure extrapolation totale

Les résultats du tableau III.15 nous permettent de déterminer le modèle corps pur pour l'EBC qui conduit globalement la meilleure extrapolation totale par l'approche IAST. Le modèle de Langmuir pour l'EBC apparaît comme le plus indiqué pour l'extrapolation par l'approche IAST des capacités d'adsorption des triplets testés, avec une erreur moyenne d'extrapolation de 91 % contre 208 % pour le modèle de Freundlich.

### III.3.6. DISCUSSION DE L'APPROCHE DE PREDICTION DES CAPACITES D'ADSORPTION

La modélisation est essentielle aux professionnels de l'industrie de l'eau potable pour le dimensionnement des procédés d'adsorption. Lorsque que la réglementation impose des seuils de concentration très bas, des questionnements sur la possibilité d'extrapolation ces modèles peuvent apparaitre. Ce sujet a déjà été abordé dans le cadre de la problématique de la pollution créée par les pesticides. Partant du principe que les composés cibles sont à des concentrations très inférieures à celle de la MON, Knappe *et al.*, (1998) ont effectué des simplifications dans les équations de l'IAST. Ces simplifications ont amené les auteurs à une expression du pourcentage d'élimination de composé cible, pour une quantité de charbon donnée, indépendante de sa concentration initiale. Cette expression leur a permis de prédire de façon satisfaisante des isothermes d'adsorption compétitives de l'atrazine. Plus récemment, Yu *et al.*, (2008) ont utilisé ce modèle IAST simplifié pour déterminer les concentrations de charbon actif en poudre minimales nécessaires à un abattement de 90 % pour des concentrations initiales de perturbateurs endocriniens et produits pharmaceutiques de 50 et 500 ng.L<sup>-1</sup>.

Ce modèle simplifié, bien qu'il permette une résolution plus aisée des équations de l'IAST, ne peut être employé que sous des conditions précises et, *a fortiori*, limitantes. En effet, il suppose l'utilisation du modèle de Freundlich pour le composé cible et l'EBC, et des valeurs proches pour le paramètre n des deux co-adsorbats. Outre les conditions limitantes d'utilisation de cet IAST simplifié, bien que Knappe *et al.*, (1998) et Yu *et al.*, (2008) aient obtenu des résultats de prédiction satisfaisants, les manipulations nécessaires à l'ajustement du modèle IAST ont été effectuées à des concentrations faibles, qui nécessite un matériel et une méthode analytiques avancés.

Le programme informatique qui effectue la résolution numérique des équations complètes de l'IAST permet l'utilisation de modèles différents pour le composé cible et l'EBC, et non limitée à celui de Freundlich qui s'est tout de même avéré le moins performant, dans le cas des composés en eau ultra-pure, pour l'extrapolation vers les basses concentrations. Il permet

également, comme nous l'avons vu, d'effectuer des extrapolations allant du  $\text{mg.L}^{-1}$  au  $\text{ng.L}^{-1}$ , impliquant des manipulations d'ajustement à haute concentration moins compliquées à réaliser.

### III.3.7. PROTOCOLE DE L'OUTIL D'EXTRAPOLATION

Les équilibres d'adsorption à haute et à basse concentration, en eau ultra pure et en eau naturelle, nous ont permis d'effectuer trois ajustements du modèle IAST-EBC :

- en corps pur et avec compétition, uniquement à haute concentration (CP HC-C HC) pour une extrapolation totale des capacités d'adsorption en compétition,
- en corps pur, sur la gamme totale et uniquement à haute concentration pour l'effet de compétition, (CP T-C HC) pour une extrapolation partielle,
- en corps pur et avec compétition, sur la gamme totale (CP T-C T) pour la comparaison des erreurs d'extrapolation.

Deux niveaux d'extrapolation sont donc possibles à ce stade. Pour chaque niveau, les modèles corps pur pour le composé cible et pour l'EBC permettant la plus faible erreur d'extrapolation ont été déterminés. Dans le cas de l'extrapolation partielle, le modèle de Langmuir-Freundlich représente le corps pur et le modèle de Langmuir représente l'EBC. Le tableau III.17 donne les paramètres d'équilibre des co-adsorbats, ainsi que les erreurs à haute, à basse concentration et sur la gamme totale. Les résultats des manipulations réalisées permettent de calculer une erreur moyenne d'extrapolation partielle de 85 % et une erreur moyenne de simulation à basse concentration de 24 %, soit une erreur multipliée par un facteur de 3,5. Le tableau III.18 donne les mêmes résultats que le tableau III.17, mais dans le cas d'une extrapolation totale. Le modèle de Langmuir-Freundlich représente le corps pur pour le triplet BPA/F400 et le modèle de Langmuir représente le corps pur dans les quatre autres cas. L'erreur de l'extrapolation totale est de 91 %, soit un facteur de 3,8. Enfin, l'erreur sur l'analyse, donnée par l'intervalle de confiance calculé dans le Chapitre II de ce manuscrit, permet de comparer les prédictions à l'erreur de l'analyse par UPLC-MS/MS. Pour les manipulations dans l'eau naturelle, l'erreur sur la concentration estimée est de 40 %. La figure III.20 représente les erreurs d'extrapolation partielle et totale comparées aux erreurs de simulation et d'analyse.



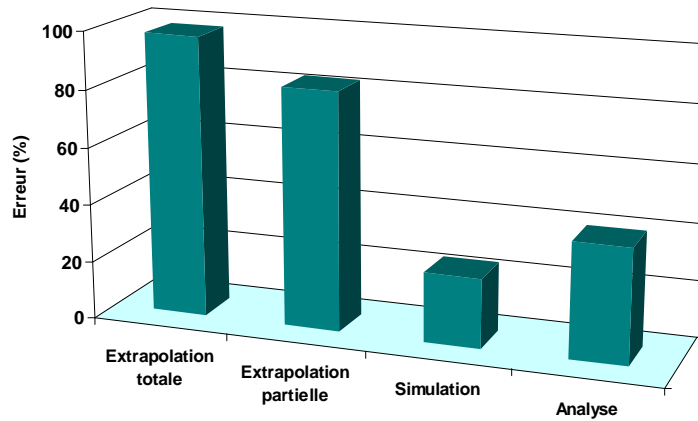


Figure III.20 Comparaison des erreurs moyennes d'extrapolation, de simulation et d'analyse à basse concentration

La figure III.20 montre que de manière globale une prédiction des capacités d'adsorption en compétition par extrapolation totale n'est que légèrement moins juste que lorsqu'elle est effectuée par extrapolation partielle. En d'autres termes, il semble que les manipulations en corps pur à basse concentration ne soient pas indispensables à extrapolation. D'un autre côté, ces mêmes résultats suggèrent que l'augmentation de l'erreur à basse concentration est due au modèle d'équilibre d'adsorption compétitive. L'approche IAST permet une simulation satisfaisante de l'adsorption en eau naturelle mais est moins performante dans le cas de l'extrapolation. L'erreur de l'analyse pour les équilibres d'adsorption compétitifs peut générer des paramètres de l'EBC biaisés et conduire à une erreur d'extrapolation importante. L'ajout de manipulations en compétition à haute concentration pourrait dans ce cas affiner l'extrapolation. Une dilution supplémentaire de la MON pourrait également permettre de déterminer des paramètres de l'EBC plus justes et de diminuer l'erreur de l'extrapolation.

Tableau III.17 Paramètres des modélisations IAST-EBC et erreurs moyennes dans le cas de l'extrapolation partielle (ajustement CP T-C HC)

Triplet	Modèles Corps pur Cible-EBC	Paramètres Corps pur Langmuir-Freundlich CP T			Paramètres EBC Langmuir C HC			Erreur moyenne des isothermes (%)		
		$q_{\max}$ ( $\mu\text{mol.g}^{-1}$ )	<b>b</b>	<b>n</b>	$q_{\max}$ ( $\mu\text{mol.g}^{-1}$ )	<b>b</b>	$C_{\text{EBC}}$ ( $\mu\text{mol.L}^{-1}$ )	$E_{\text{HC}}$	$E_{\text{BC}}$	$E_{\text{T}}$
BPA/NC 90/eau de puits	LF- L	1611,2	48,9	0,91	3312,1	0,25	19,56	19	47*	31*
BPA/F400/eau de puits	LF- L	1191,3	7,74	1,44	2024,1	0,47	7,82	7	134*	82*
EE2/F400/eau de puits	LF- L	1520,1	60,4	0,89	771,20	3,07	1,93	30	110*	67*
EE2/NC 90/eau de puits	LF- L	1877,3	484,5	0,71	3184,1	0,53	9,39	33	59*	45*
BPA/F400/eau du Meu	LF- L	1191,3	7,74	1,44	2166	0,34	11,63	9	65	37
EE2/F400/eau du Meu	LF- L	1443,3	72,8	0,87	2488,9	2,79	7,90	21	93*	61*

Tableau III.18 Paramètres des modélisations IAST-EBC et erreurs moyennes dans le cas de l'extrapolation totale (ajustement CP HC-C HC)

Triplet	Modèles Corps pur Cible-EBC	Paramètres Corps pur Langmuir- Freundlich CP T			Paramètres EBC Langmuir C T			Erreur moyenne des isothermes (%)		
		$q_{\max}$ ( $\mu\text{mol.g}^{-1}$ )	<b>b</b>	<b>n</b>	$q_{\max}$ ( $\mu\text{mol.g}^{-1}$ )	<b>b</b>	$C_{\text{EBC}}$ ( $\mu\text{mol.L}^{-1}$ )	$E_{\text{HC}}$	$E_{\text{BC}}$	$E_{\text{T}}$
BPA/NC 90/eau de puits	L- L	1575,5	56,7	-	3012,2	0,26	20,7	19	41	29
BPA/F400/eau de puits	LF- L	1200,1	7,74	1,38	2047,5	0,49	8,0	8	154	94
EE2/F400/eau de puits	L- L	1409,8	89,4	-	4645,0	141,4	0,72	49	71	59
EE2/NC 90/eau de puits	L- L	2067,5	344,8	-	5713,1	0,04	15,7	8	87	50
BPA/F400/eau du Meu	LF- L	1200,1	7,74	1,38	2124	0,38	11,41	9	73	41
EE2/F400/eau du Meu	L- L	1434,4	97,5	-	2324,8	0,04	16,3	18	122	73

LF-L: Langmuir-Freundlich–Langmuir; LF-F: Langmuir-Freundlich–Freundlich; LF-LF: Langmuir-Freundlich–Langmuir-Freundlich

CP: corps pur; C: compétition; T: gamme totale; HC: haute concentration;  $E_{\text{HC}}$ : erreur à haute concentration,  $E_{\text{BC}}$ : erreur à basse concentration,  $E_{\text{T}}$ : erreur gamme totale  
: extrapolation aux basses concentrations

### III.4. CONCLUSION

La capacité d'extrapolation des modèles d'équilibres d'adsorption en corps pur et en compétition a été évaluée à l'aide de manipulations en eau ultra pure et en eau naturelle, à haute et basse concentrations, sur six triplets polluant/charbon/eau naturelle. En corps pur, l'ajustement des modèles effectué uniquement sur les données à haute concentration a conduit à des extrapolations de justesse variable, selon le type de modèle appliqué. Le modèle de Langmuir s'est montré le plus juste dans l'extrapolation des capacités d'adsorption, pour 3 couples composé/charbon sur quatre ; et le modèle de Langmuir-Freundlich dans le dernier cas. Cependant, c'est le modèle de Langmuir-Freundlich qui a montré la meilleure description de l'adsorption des composés cibles sur le domaine global de concentration. En adsorption compétitive, l'approche IAST-EBC a été appliquée aux manipulations en eau naturelle et a permis de représenter de manière satisfaisante l'effet de compétition supérieur de la MON lorsque le composé cible est très dilué. Deux types d'ajustement ont été effectués en vue d'une extrapolation totale ou partielle des capacités d'adsorption en eau naturelle. L'extrapolation partielle fait appel au modèle corps pur du composé cible ajusté sur la gamme totale de concentration dans l'approche IAST-EBC, en l'occurrence par le modèle de Langmuir-Freundlich. Et l'extrapolation totale associe le meilleur modèle corps pur ajusté uniquement à haute concentration. Le modèle de Langmuir associé à l'EBC dans l'approche IAST a conduit à une erreur moyenne d'extrapolation partielle de 85 %, à une erreur moyenne de 91 % pour l'extrapolation totale. Cette extrapolation permet d'obtenir de manière satisfaisante, notamment au regard de l'erreur de l'analyse, les capacités d'adsorption à basse concentration en compétition. La comparaison de ces résultats avec la simulation par l'IAST-EBC sur la gamme totale montre que l'erreur à basse concentration n'est finalement que multipliée par un facteur de 3,8 dans le cas d'une extrapolation. L'IAST-EBC permet donc globalement de représenter l'adsorption des perturbateurs endocriniens étudiés. L'extrapolation entraîne, sans surprise, une perte de précision, mais celle-ci reste au final assez raisonnable, y compris en extrapolation totale, au vu du nombre d'expériences utilisées pour l'ajustement et les incertitudes expérimentales. D'autres manipulations pourrait être envisagées afin de consolider les paramètres des différents modèles et ainsi savoir si des données supplémentaires ou plus précises permettraient de réduire les facteurs d'accroissement de l'erreur entre ajustement global et extrapolation.

Les paramètres d'adsorption des composés cibles et des différents EBC seront utilisés pour la modélisation et l'extrapolation des cinétiques d'adsorption en eau ultra pure et eau naturelle.

## IV. MODELISATION ET EXTRAPOLATION DES CINÉTIQUES D'ADSORPTION

### IV.1. INTRODUCTION

Cette partie est dédiée à la cinétique d'adsorption des perturbateurs endocriniens, à sa modélisation et à l'évaluation de son extrapolation aux faibles concentrations à l'aide d'un modèle associant un transfert de masse externe à la particule de charbon actif à la diffusion homogène de surface dans les pores de l'adsorbant (nous utiliserons le sigle HSDM, pour Homogeneous Surface Diffusion Model, pour identifier l'ensemble). Les paramètres d'équilibre obtenus dans la partie précédente sont indispensables et déterminants pour la simulation des cinétiques d'adsorption et la détermination des paramètres cinétiques les plus justes, que ce soit en eau pure ou en eau naturelle. Dans ce modèle, le coefficient de transfert de masse externe  $k_f$  et le coefficient de diffusion superficielle  $D_s$  sont supposés les seuls mécanismes cinétiquement limitants. Il s'agira donc de déterminer, à partir de résultats expérimentaux et pour chaque cinétique, la valeur de ces deux coefficients. D'autre part, dans le cadre de la mise en place d'une méthodologie d'extrapolation, nous nous intéresserons à la prédiction des cinétiques d'adsorption à basse concentration. En réacteur parfaitement agité discontinu, de type batch, la valeur du coefficient  $k_f$  est fonction de la diffusivité moléculaire, de la vitesse d'agitation, de la granulométrie du charbon actif, et est, *a priori* pour des solutions très diluées, indépendante de la concentration du soluté. En revanche, pour une extrapolation aux basses concentrations juste, le coefficient de diffusion superficielle et sa variation en fonction du niveau de dilution du composé cible seront déterminants. En effet, des études ont montré que la valeur de ce paramètre cinétique diminue avec la concentration du soluté (Noll *et al.*, 1992).

L'étude de la cinétique d'adsorption des perturbateurs endocriniens choisis a été effectuée à deux niveaux de concentration. La concentration initiale des solutions de la gamme haute ( $C_0 = 100 \mu\text{g.L}^{-1}$ ) a été choisie à la fois proche des conditions réelles, dans le but de minimiser la variation de la valeur du  $D_s$ , et assez élevée pour permettre l'analyse directe. Les résultats expérimentaux ont été modélisés, extrapolés puis comparés aux cinétiques expérimentales à basse concentration ( $C_0 = 2 \mu\text{g.L}^{-1}$ ), et les valeurs des paramètres cinétiques à haute et basse concentrations pourront être comparées. La réalisation des cinétiques d'adsorption en eau ultra-pure puis en eau naturelle permettra l'obtention des coefficients de transfert de masse du composé cible puis ceux de l'EBC pour chaque triplet polluant/charbon/eau naturelle étudié, ainsi que l'évaluation des capacités d'extrapolation des cinétiques en corps pur et en compétition.

Les paramètres des modèles d'équilibres du corps pur et de l'EBC obtenus dans la partie précédente, dans le cadre des différents ajustements des modèles d'adsorption, seront testés pour les simulations des cinétiques.

## IV.2. CINÉTIQUES D'ADSORPTION EN CORPS PURS

### IV.2.1. DETERMINATION DES PARAMÈTRES CINÉTIQUES DES COMPOSÉS CIBLES

Les manipulations de cinétique d'adsorption ont été effectuées à deux niveaux de concentration afin d'évaluer la variation de la valeur du  $D_s$  du composé cible entre  $C_0 = 100 \mu\text{g.L}^{-1}$  et  $C_0 = 2 \mu\text{g.L}^{-1}$ . Les éventuelles variations de la valeur du  $k_f$  seront attribuées au changement des conditions opératoires, d'un niveau de concentration à l'autre. En effet, en raison des nécessités techniques liées aux volumes des prélèvements requis pour l'analyse de traces, deux réacteurs différents ont été utilisés pour la réalisation des cinétiques d'adsorption aux gammes haute et basse de concentration. Ces deux réacteurs sont susceptibles de fournir des conditions hydrodynamiques différentes, et par conséquent avoir une influence sur le transfert de masse externe. Dans tous les cas, les valeurs de  $k_f$  déterminées à partir nos manipulations en réacteur batch n'ont pas d'utilité pour la simulation de l'adsorption en lit fixe, réacteurs retrouvés dans les filières de traitement de l'eau potable et pour lesquels des corrélations spécifiques existent. A titre d'exemple, la corrélation de Wakao et Funazkri (1978) a été utilisée avec succès pour l'étude de l'adsorption de composés organiques sur charbon actif (McKay *et al.*, 1986; Abiven, 2002; Murillo *et al.*, 2004). Les cinétiques d'adsorption ont été réalisées en mode batch afin de déterminer plus aisément les valeurs de  $D_s$  des composés cibles. Si le modèle choisi traduit correctement le comportement cinétique de notre système, ce paramètre devrait en principe être indépendant du type de réacteur. Les valeurs de  $D_s$  obtenues devraient donc pouvoir être utilisées pour la simulation de la cinétique d'adsorption sur lit fixe.

La figure III.21 présente les expériences de répliques de deux cinétiques corps pur sur le charbon F400. Nous pouvons distinguer deux situations. Dans le cas du Bisphénol A, les deux évolutions sont très proches et les différences peuvent facilement être attribuées aux incertitudes de mesures des concentrations ponctuelles : l'hypothèse d'une seule et même cinétique est acceptable. Dans l'exemple de l'Ethinylestradiol, les concentrations ont également des intervalles de confiance qui se recouvrent, mais l'écart entre les concentrations prises au même temps est

trop systématique pour pouvoir être aléatoire. Nous avons affaire à deux cinétiques légèrement différentes, en raison par exemple d'un échantillonnage de charbon dans un mélange non homogène pour les deux essais. L'ajustement du modèle cinétique peut être mené séparément pour chaque cinétique. Il se trouve que l'ajustement de la cinétique « Manipulation 1 » a conduit à des valeurs de paramètres incohérentes ( $k_f$  trop important), alors que celui de la « Manipulation 2 » a fourni des informations en accord avec la moyenne de l'ensemble des expériences. Nous ne présenterons ici qu'une cinétique par couple composé/charbon.

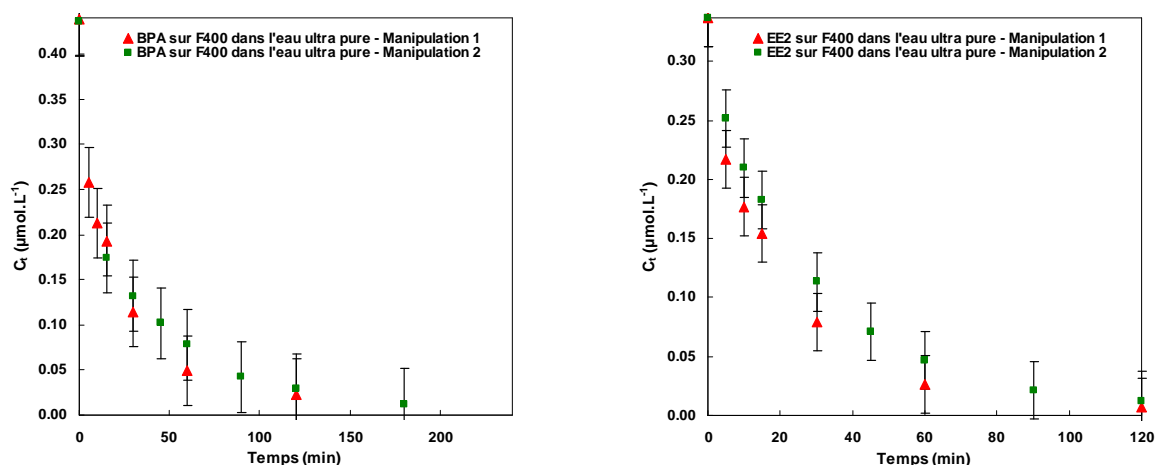


Figure III.21 Réplifications de cinétiques d'adsorption en corps pur du bisphénol A et de l'éthinylestradiol sur les CAP F400 ( $C_{\text{charbon}} = 5 \text{ mg.L}^{-1}$ )

Quatre couples polluant/charbon ont été étudiés en corps pur. La figure III.22 présente les cinétiques d'adsorption à haute et basse concentrations de ces couples. Nous pouvons observer que l'équilibre adsorption est atteint plus rapidement lorsque le composé cible est dilué.

Le modèle HSDM requiert les paramètres d'équilibre du composé étudié. Pour chaque couple et chaque niveau de concentration, deux simulations HSDM ont été effectuées, l'une utilisant les paramètres d'adsorption du composé cible pour un ajustement du modèle d'équilibre uniquement à haute concentration (CP HC) représentée dans la figure III.22, et l'autre pour un ajustement du modèle d'équilibre sur la gamme complète de concentration (CP T). Les valeurs des coefficients  $k_f$  et  $D_s$  de chaque cas sont présentées avec la valeur des erreurs des simulations dans le tableau III.19 pour le BPA et dans le tableau III.20 pour l'EE2.

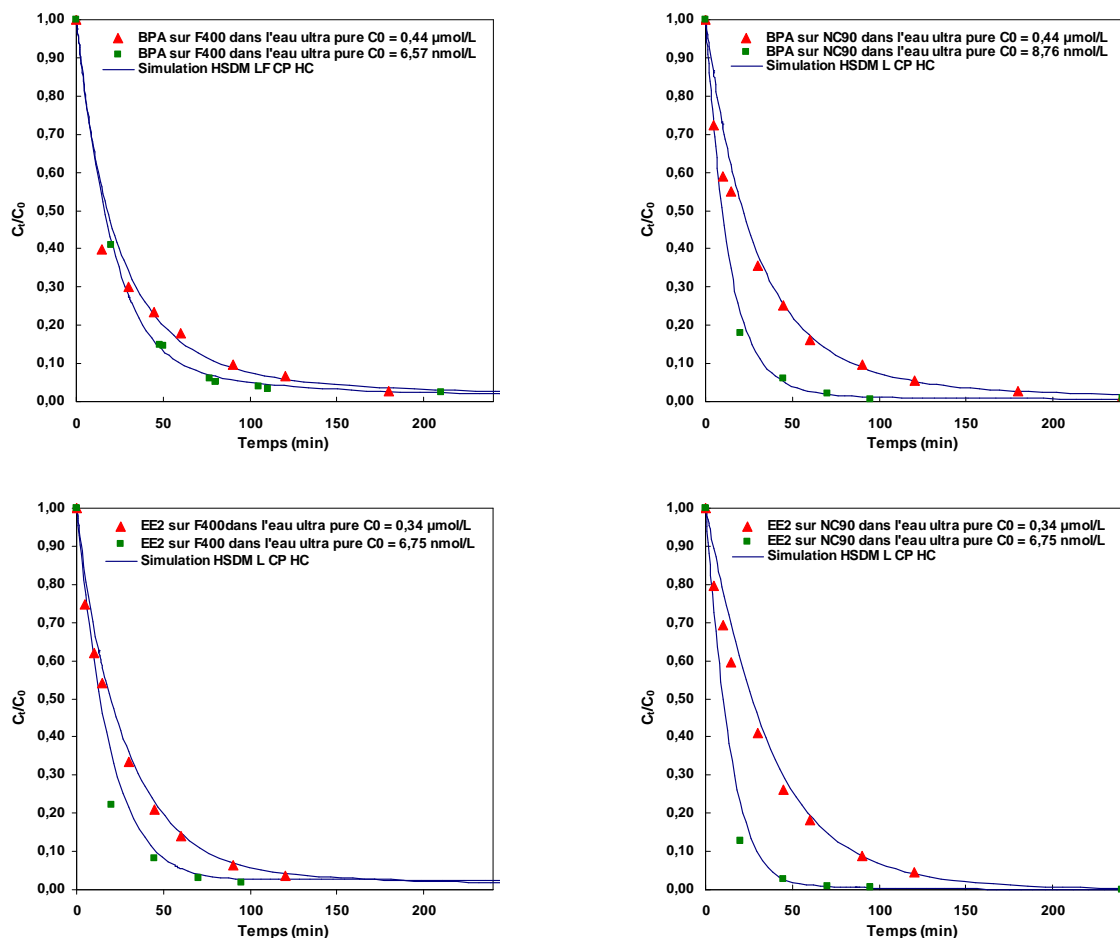


Figure III.22 Cinétiques d'adsorption en corps pur à haute (triangle rouge) et basse concentrations (carré vert) du bisphénol A et de l'éthinylestradiol sur les CAP F400 et NC 90, et leurs simulations par le modèle HSDM ( $C_{\text{charbon}} = 5 \text{ mg.L}^{-1}$ )

La valeur des erreurs confirme ce qui est observable dans la figure III.22 : le modèle HSDM permet globalement de simuler de manière satisfaisante les cinétiques d'adsorption des composés étudiés, à haute comme à basse concentration. En effet, les erreurs de simulation sont inférieures à 32 %, à l'exception d'un cas : la simulation de la cinétique d'adsorption à basse concentration du couple EE2/NC 90 avec les paramètres d'équilibre de l'ajustement CP T ( $E = 152,3 \%$ ). Dans ce cas, l'équilibre calculé par le modèle HSDM était différent de l'équilibre expérimental. Ce biais ne peut être corrigé par l'ajustement des paramètres cinétiques, et est même susceptible de conduire l'optimisation à des valeurs erronées de ces coefficients. Étonnamment, et très probablement par pur hasard, l'erreur d'extrapolation du modèle d'équilibre ajusté à haute concentration, a été du même ordre que le biais expérimental et a donc permis un ajustement correcte de la cinétique.

Tableau III.19 Paramètres cinétiques  $k_f$  et  $D_s$ , Nombre de Biot et erreur de la simulation de l'adsorption du bisphénol A sur les CAP F400 et NC 90 pour les deux ajustements des modèles d'équilibre

	BPA/F400			
	Ajustement CP HC		Ajustement CP T	
	Cinétique HC	Cinétique BC	Cinétique HC	Cinétique BC
$D_s$ (cm.s <sup>-1</sup> )	1,72 x 10 <sup>-11</sup>	1,48 x 10 <sup>-12</sup>	1,55 x 10 <sup>-11</sup>	9,73 x 10 <sup>-13</sup>
$k_f$ (s <sup>-1</sup> )	1,53 x 10 <sup>-1</sup>	1,87 x 10 <sup>-1</sup>	1,60 x 10 <sup>-1</sup>	1,93 x 10 <sup>-1</sup>
Nombre de Biot	24,4	35,6	28,7	55,1
Erreur de la simulation (%)	16,4	14,0	15,8	10,6
	BPA/NC 90			
	Cinétique HC	Cinétique BC	Cinétique HC	Cinétique BC
	$D_s$ (cm.s <sup>-1</sup> )	1,88 x 10 <sup>-12</sup>	6,45 x 10 <sup>-12</sup>	2,74 x 10 <sup>-12</sup>
$k_f$ (s <sup>-1</sup> )	8,32 x 10 <sup>-2</sup>	1,57 x 10 <sup>-1</sup>	7,20 x 10 <sup>-2</sup>	1,48 x 10 <sup>-1</sup>
Nombre de Biot	112,6	3,6	65,1	0,6
Erreur de la simulation (%)	9,3	31,6	11,4	30,4

Le nombre de Biot ( $Biot = \frac{k_f R_p C_0}{D_s \rho_p q_0}$ ) traduit l'importance relative des deux mécanismes

de transfert, il est couramment admis (Traegner et Suidan, 1989a) qu'une valeur de Biot entre 1 et 100 indique que les deux mécanismes sont significatifs. Ces limites ne sont pas intangibles, il faut les considérer avec une certaine souplesse : par exemple, elles supposent des particules parfaitement sphériques, ce qui n'est pas le cas des grains de charbons broyés utilisés. Les valeurs du nombre de Biot sont pour la plupart comprises entre 1 et 100, avec deux valeurs extrêmes de 0,6 et 235,6, ce qui indique que le transfert de masse externe et la diffusion superficielle contribuent tous deux à la cinétique d'adsorption des composés cibles sur les charbons étudiés, à haute comme à basse concentration. Chang *et al.* (2004) ont obtenu des coefficients  $k_f$  et  $D_s$  similaires pour la cinétique d'adsorption de l'estrone sur le CAP Norit SAM 52, avec un nombre de Biot de 0,76. Ces auteurs ont également conclu que l'adsorption était limitée par les deux mécanismes de transfert.

L'observation des valeurs du paramètre cinétique  $D_s$ , fait apparaître deux types de variation en fonction de la concentration. Pour le couple BPA/F400, quel que soit l'ajustement du modèle d'équilibre associé au modèle HSDM, et pour le couple EE2/F400, avec l'ajustement CP HC, la valeur de  $D_s$  diminue avec la concentration du composé cible. Dans les autres cas, les valeurs de  $D_s$  suggèrent que la diffusion superficielle est inversement proportionnelle à la concentration du soluté. Ces derniers résultats expérimentaux sont en contradiction avec les observations faites au cours d'autres études (Noll *et al.*, 1992). En fait, on note dans le cas du



charbon NC90, et ce quel que soit le composé, que le coefficient  $k_f$  à haute concentration est particulièrement plus faible que pour le F400 ou avec le réacteur utilisé à basse concentration. Or c'est justement dans ces cas, que le  $D_s$  se comporte à l'inverse de ce qui est attendu. En réalité,  $k_f$  et  $D_s$  forment un couple, un défaut dans l'un induit une erreur pour l'autre. Il apparaît également, dans ces cas, que nos erreurs de simulation sont les plus élevées. Nous n'avons malheureusement pas pu identifier la cause matérielle à l'origine de ce problème.

Tableau III.20 Paramètres cinétiques  $k_f$  et  $D_s$ , Nombre de Biot et erreur de la simulation de l'adsorption de l'éthinylestradiol sur les CAP F400 et NC 90 pour les deux ajustements des modèles d'équilibre

	<b>EE2/F400</b>			
	<b>Ajustement CP HC</b>		<b>Ajustement CP T</b>	
	<b>Cinétique HC</b>	<b>Cinétique BC</b>	<b>Cinétique HC</b>	<b>Cinétique BC</b>
$D_s$ (cm.s <sup>-1</sup> )	1,13 x 10 <sup>-12</sup>	4,40 x 10 <sup>-13</sup>	2,35 x 10 <sup>-12</sup>	1,36 x 10 <sup>-11</sup>
$k_f$ (s <sup>-1</sup> )	2,03 x 10 <sup>-1</sup>	3,24 x 10 <sup>-1</sup>	1,36 x 10 <sup>-1</sup>	2,28 x 10 <sup>-1</sup>
Nombre de Biot	235,6	49,9	70,9	1,9
Erreur de la simulation (%)	1,9	9,9	4,7	11,5
	<b>EE2/NC 90</b>			
	<b>Cinétique HC</b>	<b>Cinétique BC</b>	<b>Cinétique HC</b>	<b>Cinétique BC</b>
	<b>Cinétique HC</b>	<b>Cinétique BC</b>	<b>Cinétique HC</b>	<b>Cinétique BC</b>
$D_s$ (cm.s <sup>-1</sup> )	1,91 x 10 <sup>-12</sup>	2,36 x 10 <sup>-12</sup>	1,98 x 10 <sup>-12</sup>	3,64 x 10 <sup>-11</sup>
$k_f$ (s <sup>-1</sup> )	5,65 x 10 <sup>-2</sup>	1,61 x 10 <sup>-1</sup>	5,64 x 10 <sup>-2</sup>	2,77 x 10 <sup>-1</sup>
Nombre de Biot	41,7	2,8	44,9	28,6
Erreur de la simulation (%)	8,1	20,8	8,2	152,3

Il ne faut pas oublier non plus l'incertitude des points expérimentaux de la cinétique. Le programme ADSORPA peut effectuer une optimisation des coefficients cinétiques à partir de données entachées d'une erreur non négligeable et peut donc conduire à des paramètres légèrement erronés. Ainsi, pour un même couple charbon/polluant, il peut arriver que les paramètres cinétiques à haute et basse concentrations ne soient pas cohérents entre eux.

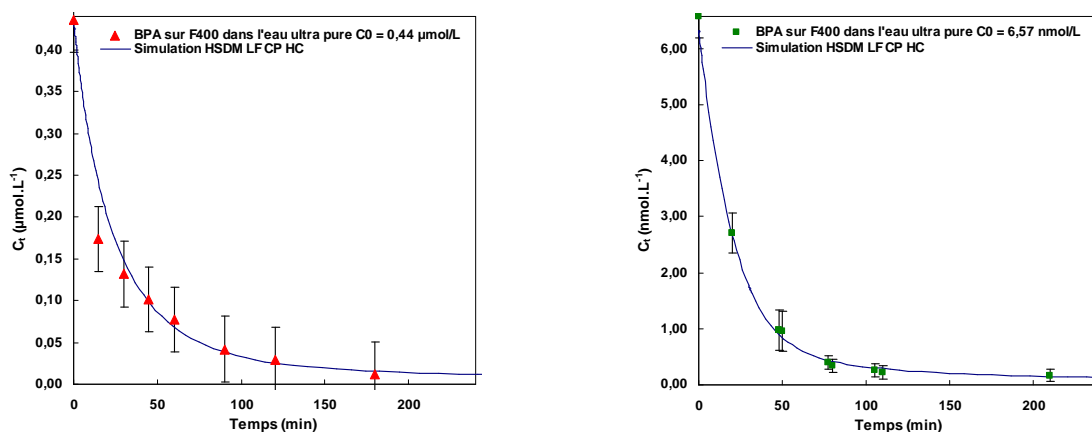


Figure III.23 Cinétiques d'adsorption du BPA sur charbon actif F400 à haute et basse concentration avec intervalle de confiance sur la valeur estimée ( $C_{\text{charbon}} = 5 \text{ mg.L}^{-1}$ )

La figure III.23 montre les erreurs des cinétiques représentées par les intervalles de confiances sur les valeurs estimées par les méthodes d'analyses HPLC-Fluo pour les cinétiques à haute concentration et UPLC-MS/MS pour les basses concentrations. Ces intervalles montrent que l'erreur de l'analyse implique une incertitude non négligeable sur les cinétiques d'adsorption et possiblement sur la détermination des coefficients de transfert de masse. La répétition des manipulations de cinétiques permettrait de réduire ces incertitudes.

#### IV.2.2. EXTRAPOLATION DES CINÉTIQUES D'ADSORPTION A BASSE CONCENTRATION

Dans cette partie de l'étude, les coefficients de transfert de masse déterminés par l'approche HSDM vont être utilisés afin de simuler par extrapolation les cinétiques d'adsorption des couples polluant/charbon étudiés à basse concentration. Nous nous plaçons dans les conditions que nous aurions si nous n'avions fait aucun ajustement à basse concentration : nous évaluerons l'erreur effectuée sur l'extrapolation des cinétiques à basse concentration lorsque l'effet de dilution du composé cible n'est pas répercuté sur la valeur du  $D_s$ . De plus, le coefficient  $k_f$  utilisé sera celui obtenu des manipulations à haute concentration.

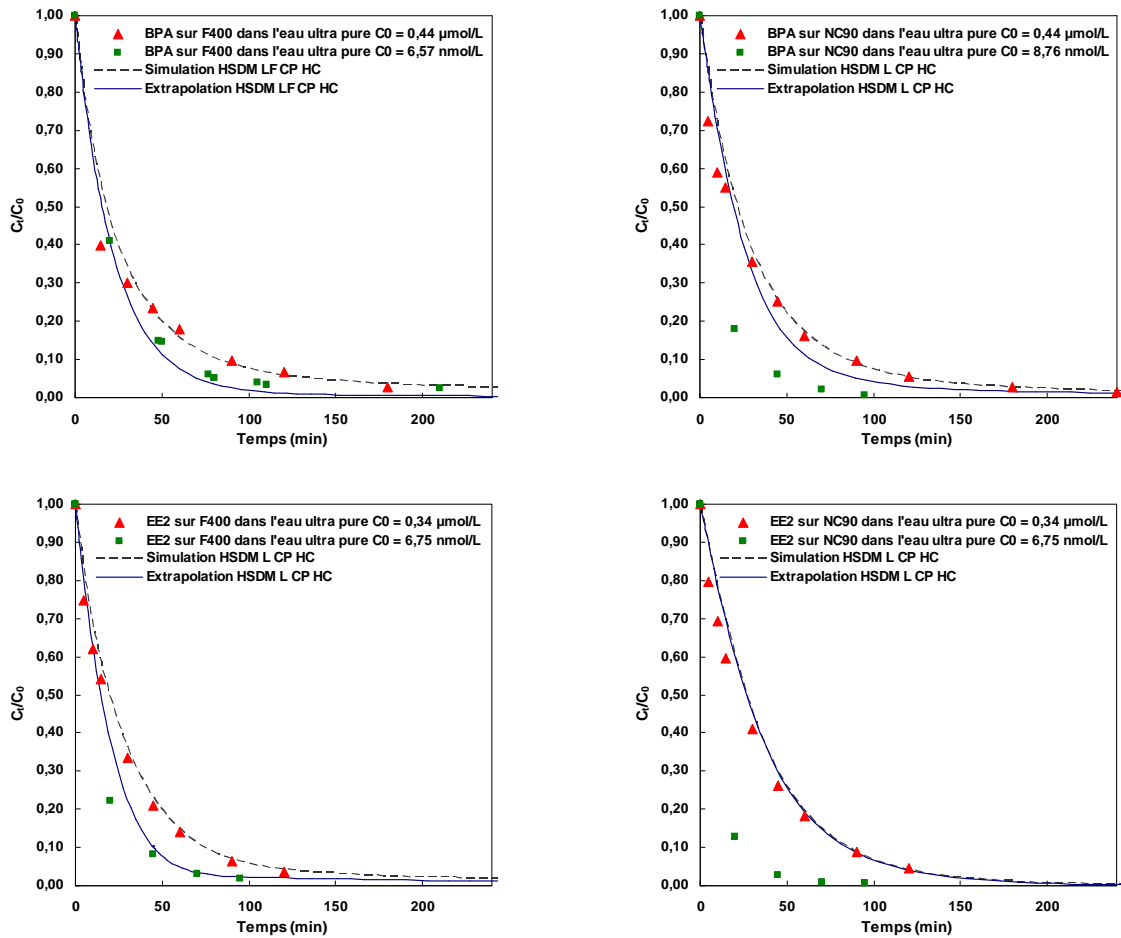


Figure III.24 Cinétiques d'adsorption en corps pur du bisphénol A et de l'éthinylestradiol sur les CAP F400 et NC 90, à haute concentration simulées par le modèle HSDM et à basse concentration extrapolées ( $C_{\text{charbon}} = 5 \text{ mg.L}^{-1}$ )

La figure III.24 montre les simulations et extrapolations des cinétiques d'adsorption à haute et basse concentrations, respectivement. Et les tableaux III.21 et III.22 indiquent les erreurs de simulation et d'extrapolation des cinétiques à basse concentration des couples polluant/charbon étudiés.

Tableau III.21 Erreur de la simulation et de l'extrapolation des cinétiques d'adsorption du bisphénol A sur les CAP F400 et NC 90, et leur ratio pour les deux ajustements des modèles d'équilibre

	Erreur à basse concentration (%)					
	BPA/F400			BPA/NC 90		
	Extrapolation	Simulation	Ratio	Extrapolation	Simulation	Ratio
Ajustement CP HC	20,3	14,0	1,5	244,1	31,6	7,7
Ajustement CP T	29,0	10,6	2,7	389,7	30,4	12,8

Tableau III.22 Erreur de la simulation et de l'extrapolation des cinétiques d'adsorption de l'éthinylestradiol sur les CAP F400 et NC 90, et leur ratio pour les deux ajustements des modèles d'équilibre

	Erreur à basse concentration (%)					
	EE2/F400			EE2/NC 90		
	Extrapolation	Simulation	Ratio	Extrapolation	Simulation	Ratio
Ajustement CP HC	22,5	9,9	2,3	1040	20,8	50,0
Ajustement CP T	171,3	11,5	14,9	1090	152,3	7,2

Ce n'est très probablement pas un hasard, si ce sont justement les extrapolations du charbon NC90 qui échouent, dues à l'utilisation du coefficient  $k_f$  obtenu des manipulations à haute concentration relatives à un réacteur de géométrie différente. Pour le couple BPA/F400, et EE2/F400 en ajustement CP HC les erreurs d'extrapolation sont inférieures à 30 %, pour un ratio avec l'erreur de simulation inférieur à 3. Il semble que les données expérimentales des couples BPA/F400 et EE2/F400 aient pu conduire à l'obtention des paramètres cinétiques corrects par l'approche HSDM. Le coefficient  $D_s$  diminue effectivement avec la concentration du composé cible, et ne pas tenir compte de cette propriété à travers l'extrapolation multiplie l'erreur à basse concentration par un facteur allant de 1,5 à 2,7.

Dans la suite de l'étude, à l'image de la méthodologie adoptée dans la partie équilibre en eau naturelle, deux niveaux d'extrapolation des cinétiques d'adsorption en compétition pourront être réalisés. L'extrapolation « totale » correspond au cas où le paramètre  $D_s$  du composé cible à basse concentration n'est pas connu. Des manipulations pourraient être ajoutées au protocole expérimental d'extrapolation afin de déterminer ce paramètre et d'effectuer l'extrapolation « partielle » des cinétiques d'adsorption. D'autres manipulations à des concentrations initiales plus élevées pourraient permettre de déterminer la fonction que lie  $D_s$  à la concentration initiale et donner par extrapolation la valeur du coefficient  $D_s$  à basse concentration.

#### IV.2.3. DISCUSSION DES PARAMETRES CINETIQUES

Si l'on met à part les résultats à haute concentration du charbon NC90, il est possible d'effectuer quelques commentaires sur la valeur des coefficients cinétiques obtenus (Tableaux III.19 et III.20). Le paramètre  $k_f$  est systématiquement supérieur pour le F400 dans le cas des cinétiques d'adsorption à basse concentration par rapport aux hautes concentrations, d'un facteur 1,64 pour l'EE2 et d'un facteur 1,22 pour le BPA. Il semblerait que les conditions hydrodynamiques des cinétiques à basse concentration soit favorables à la réduction du film

liquide autour du grain de charbon actif. La valeur du  $k_f$  de l'EE2 est systématiquement supérieure à celle du  $k_f$  du BPA pour les deux charbons à basse concentration. Ce coefficient est proportionnel à la diffusion moléculaire. Une explication pourrait être que le bisphénol A, plus hydrophile que l'hormone de synthèse, serait plus solvatée, entourée d'une quantité plus importante de molécules d'eau qui se déplaceraient avec lui, augmentant ainsi son volume apparent. Cette taille supérieure pour le plastifiant impliquerait un transfert moins rapide dans la couche limite du même charbon.

Contrairement à ce qui a été observé pour  $k_f$ , la valeur du coefficient de diffusion superficielle est plus faible pour l'éthinylestradiol. Quel que soit le niveau de concentration, cette molécule se déplacerait moins vite à l'état adsorbé que le plastifiant. Ces résultats sont cohérents avec ceux de Baup (2000) et de Dudamel (2005), qui ont travaillé sur des pesticides à une concentration initiale d'environ  $500 \mu\text{g.L}^{-1}$ . Baup a trouvé que le diuron est plus adsorbé que l'atrazine et le bromoxynil sur les charbons actifs F400 et TE 60. Cependant, le diuron a montré les valeurs de  $D_s$  les plus faibles pour les deux charbons. Dudamel a trouvé pour le pesticide imidaclopride des capacités d'adsorption supérieures à celles de l'atrazine, mais avec une diffusion superficielle moins rapide. Dudamel a utilisé plusieurs modèles pour commenter ce phénomène, dont celui proposé par Kapoor *et al.* (1989) qui considère que le coefficient  $D_s$  obéit à une sorte de loi d'Arrhenius, et comporte deux paramètres :  $D_{s,0}$  et une énergie  $E_s$ . Il a montré que  $D_{s,0}$  est inversement proportionnel au paramètre  $b_0$  du modèle de Langmuir, ce qui signifie que plus l'affinité d'un composé est forte ( $b_0$  élevé), plus il aura du mal à diffuser vers le d'un site à l'autre ( $D_{s,0}$  faible).

Cette observation montre l'importance des cinétiques d'adsorption pour le dimensionnement d'un système de traitement par charbon actif. Non seulement les capacités d'adsorption les plus faibles obtenues sont prises comme référence pour déterminer la quantité de charbon nécessaire, mais aussi les coefficients cinétiques les plus faibles permettent de déterminer les temps de contact optimaux. Ainsi, au regard des résultats obtenus, même si le bisphénol A serait le paramètre clé pour déterminer la quantité de charbon nécessaire, un temps de contact insuffisant pour atteindre l'équilibre conduirait probablement l'éthinylestradiol à être le polluant le moins adsorbé.

## IV.3. CINÉTIQUES D'ADSORPTION EN COMPÉTITION

### IV.3.1. INTRODUCTION

Cette partie a pour objectifs la détermination des paramètres cinétiques de la matière organique naturelle (MON), assimilée à un seul composé fictif (EBC), et la modélisation et l'extrapolation à basse concentration des cinétiques d'adsorption en eau naturelle des perturbateurs endocriniens sélectionnés. Compte tenu du fait que les paramètres cinétiques du corps pur sont nécessaires à la modélisation de l'adsorption compétitive par l'approche HSDM, nous étudierons les couples BPA/F400 et EE2/F400 dont les coefficients de transferts de masse se sont avérés les plus pertinents. Deux types d'eau naturelle ont été étudiés, ce qui totalise un nombre de quatre triplets polluant/charbon/eau naturelle.

Le modèle HSDM requiert les paramètres d'équilibre pour la modélisation. Ainsi, dans le cadre de la mise en place d'un protocole d'extrapolation et dans la continuité de l'étude effectuée jusqu'à présent, plusieurs modèles et ajustements ont été testés pour représenter les équilibres des deux co-adsorbats. Pour chaque triplet, les paramètres d'équilibre correspondants aux ajustements testés lors de la modélisation IAST ont été appliqués à l'approche HSDM :

- en corps pur et compétition, uniquement à haute concentration (CP HC-C HC)
- en corps pur sur la gamme totale et en compétition uniquement à haute concentration (CP T-C HC),
- en corps pur et en compétition, sur la gamme totale (CP T-C T).

Enfin, pour chaque triplet et chaque ajustement, deux types d'extrapolation seront testés. L'extrapolation totale faite à partir des coefficients de transfert de masse obtenus à haute concentration, et l'extrapolation partielle avec, dans notre cas, le coefficient  $D_s$  du composé cible déterminé à l'aide de manipulations effectuées à basse concentration.

### IV.3.2. DÉTERMINATION DES PARAMÈTRES CINÉTIQUES DE L'EBC

Lors de l'étude des équilibres d'adsorption en compétition, les modèles de Langmuir et de Freundlich associés à l'EBC dans la modélisation IAST se partageaient à part égale la place du modèle permettant d'obtenir la meilleure extrapolation des capacités d'adsorption des composés cibles. Lors de la détermination des paramètres cinétiques de l'EBC par l'approche HSDM, pour chaque triplet, ces deux modèles ont été testés pour représenter l'équilibre de l'EBC, faisant un total de huit modélisations. Le programme ADSORPA, développé au laboratoire CIP, a été

utilisé avec succès par Baup (2000), Abiven (2002) et Dudamel (2005) pour déterminer les paramètres du composé fictif pour les cinétiques d'adsorption de pesticides dans l'eau naturelle. Ces trois auteurs ont travaillé sur des domaines restreints de concentrations et ont utilisé le modèle de Freundlich pour représenter les équilibres du composé cible et l'EBC. Dans notre cas, les modèles de Langmuir ou de Langmuir-Freundlich, selon le triplet et l'ajustement de modèle, représentent le composé cible, et les modèles de Freundlich ou de Langmuir représentent l'EBC. En raison d'erreurs dans la résolution numérique lors de la modélisation HSDM toutes les associations de modèles corps pur n'ont pas pu être évaluées pour certaines des cinétiques de certains triplets. Quatre cas de modélisation sur huit seront présentés : deux triplets modélisés par l'approche HSDM avec le modèle de Langmuir pour l'EBC, et deux triplets impliquant le modèle de Freundlich.

Modèles d'équilibre du corps pur et de l'EBC : LF et F

Modèles d'équilibre du corps pur et de l'EBC : LF et L

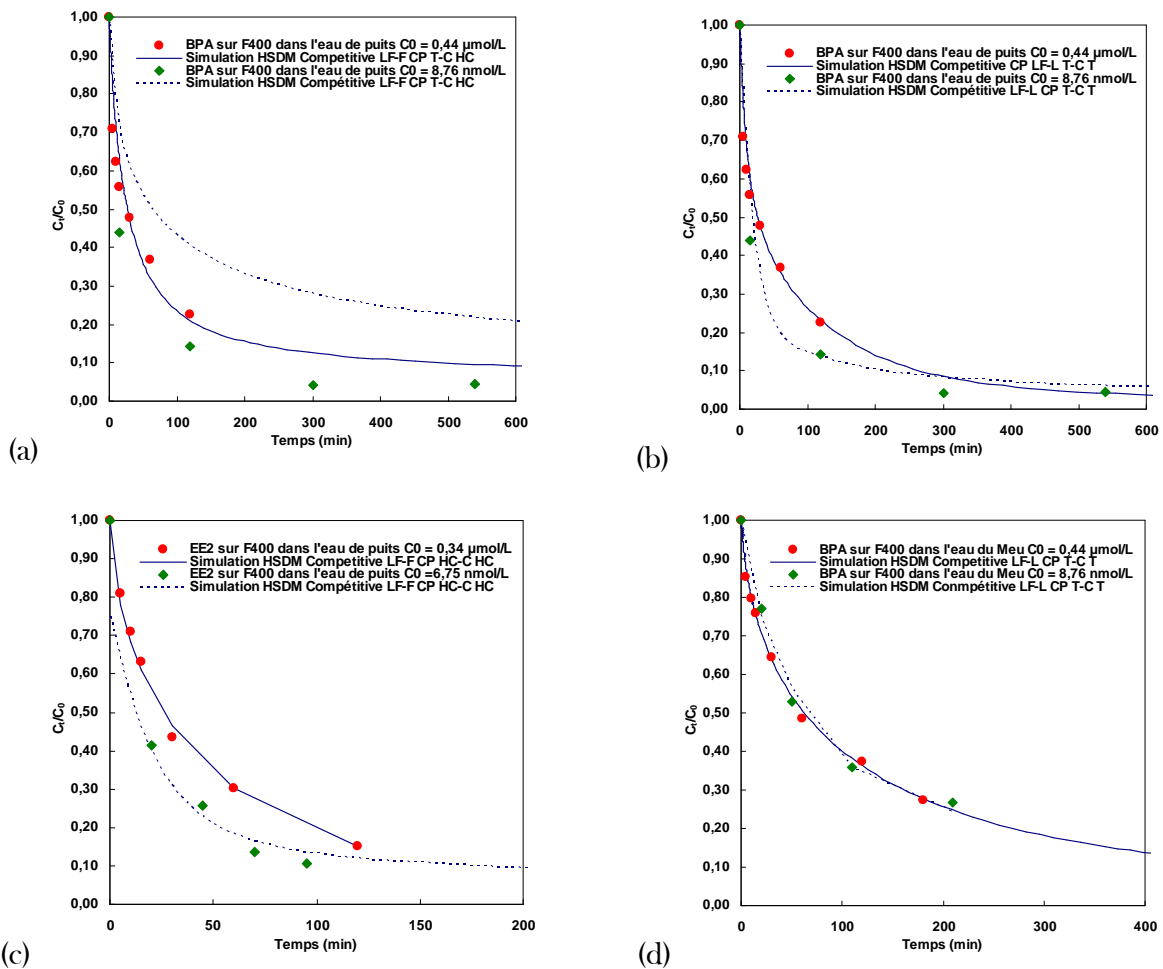


Figure III.25 Cinétiques d'adsorption en compétition à haute (rond rouge) et basse concentrations (losange vert) du bisphénol A et de l'éthinylestradiol sur les CAP F400 et NC 90, et leurs simulations par le modèle HSDM ( $C_{\text{charbon}} = 5 \text{ mg.L}^{-1}$ )

La figure III.25 présente les cinétiques d'adsorption à haute et basse concentrations de ces triplets ainsi que, dans chacun des quatre cas, les meilleures simulations données par le modèle HSDM. Nous avons vu dans la partie consacrée au corps pur que les cinétiques d'adsorption sont plus rapides à basse concentration. Dans l'eau naturelle, au vu des résultats obtenus, cette différence semble moins marquée, et particulièrement pour l'eau de rivière. Bien que la quantité de MON soit identique, l'effet de compétition semble plus important dans le cas des cinétiques d'adsorption à basse concentration.

L'effet de compétition de la MON sur la vitesse d'adsorption de composés cibles a été montré au travers de certaines études d'adsorption de polluants organiques (Newcombe *et al.*, 2002). Les résultats des cinétiques semblent non seulement confirmer cet effet mais ils semblent aussi indiquer une compétition plus importante lorsque le composé cible est très dilué, à l'image des observations faites pour les équilibres d'adsorption en compétition. Egalement, nous pouvons observer que l'effet de compétition de la MON de l'eau du Meu est supérieur à celui de la MON de l'eau de puits. En effet, en comparant les cinétiques b et d, on remarque que la concentration en fin de cinétique est plus importante dans l'eau de rivière. Cet effet de compétition supérieur de la MON de l'eau de rivière a également été observé lors de l'étude des équilibres d'adsorption des composés cibles.

Les tableaux III.23 et III.24 donnent les paramètres cinétiques du composé fictif, le Nombre de Biot correspondant, ainsi que l'erreur de la simulation des cinétiques à haute et basse concentrations pour les différents triplets et ajustements testés, lorsque le modèle de Langmuir et de Freundlich sont utilisés pour représenter l'équilibre de l'EBC. Au regard des erreurs de simulation, l'approche HSDM semble globalement pouvoir simuler les cinétiques d'adsorption compétitives des perturbateurs endocriniens étudiés à haute et basse concentrations. Les paramètres d'équilibre de l'EBC déterminés par l'approche IAST semblent représenter correctement la matière organique naturelle et son effet de compétition sur la cinétique d'adsorption des composés cibles. En effet, mis à part les cinétiques d'adsorption des triplets BPA/F400/eau de puits à basse concentration, avec le modèle de Freundlich pour l'EBC, les erreurs de simulation sont inférieures à 35 %.

Hormis pour les cinétiques d'adsorption des triplets BPA/F400/eau de puits avec le modèle de Freundlich pour l'EBC, le nombre de Biot relatif à l'EBC est, comme pour les composés cibles, dans la gamme qui indique que le mécanisme global de cinétique d'adsorption est régi par les deux mécanismes : le transfert de masse externe et la diffusion superficielle. Les valeurs de ces deux coefficients (pour les hautes concentrations) sont cohérentes avec celles



obtenues par Abiven (2002) et Dudamel (2005) pour des pesticides de masse molaire équivalente. Les valeurs de Biot de 439,3 et 360,3 pour le triplet BPA/F400/eau de puits peuvent également traduire, mais avec moins de certitude, une influence des deux mécanismes de transfert de masse, dans la mesure où Traegner et Suidan (1989) précisent qu'une valeur très supérieure à 100 indique l'influence du paramètre  $k_f$  seul sur la cinétique. Enfin, les erreurs de simulation élevées des cinétiques à basse concentration de ce même triplet mettent en doute la validité de la valeur du Nombre de Biot correspondant.

De la même façon que pour le composé cible, le transfert de masse externe de l'EBC est favorisé dans les conditions hydrodynamiques de la cinétique à basse concentration, quel que soit le triplet et l'ajustement des modèles d'équilibre. D'autre part, la valeur du coefficient  $D_s$  de l'EBC de l'éthinylestradiol est supérieur à celui de l'EBC du bisphénol A pour la même eau naturelle et le même charbon, alors que l'hormone diffuse moins vite à l'état adsorbé que le plastifiant. Dudamel (2005) a montré que le composé dont la diffusion superficielle est la plus rapide est en compétition avec un EBC dont la diffusion est la plus lente, et inversement. Nos résultats sont cohérents avec ce constat. D'autre part, nous avons vu dans la partie de la cinétique d'adsorption en corps pur que la valeur du  $D_s$  des composés cibles diminue avec la concentration. Ici, la diffusion superficielle de l'EBC augmente lorsque la concentration du composé cible diminue. Les observations de Dudamel (2005) peuvent être extrapolées à ce cas : la diffusion de surface du composé cible a une influence sur celle des molécules de la MON, et le type et la concentration du composé cible, qui ont un effet sur sa propre diffusion, auront l'effet inverse sur la diffusion des molécules de la MON.

La plupart des résultats obtenus montrent une description satisfaisante des cinétiques d'adsorption en compétition avec des modèles autres que Freundlich pour le composé cible et l'EBC. Ces modèles d'équilibre ont été sélectionnés parce qu'ils ont montré des simulations et extrapolations des capacités d'adsorption plus qu'acceptables. Dans la suite de cette partie, nous étudierons l'extrapolation des cinétiques d'adsorption à partir des coefficients obtenus ici.

Tableau III.23 Paramètres cinétiques et Nombre de Biot de l'EBC, et erreur de la simulation de l'adsorption en compétition à haute et basse concentrations du bisphénol A et de l'éthinylestradiol sur CAP F400 dans l'eau de puits, avec le modèle Freundlich pour l'EBC

	Modèle d'équilibre de Freundlich pour l'EBC					
	BPA/F400/eau de puits				EE2/F400/eau de puits	
	Ajustement CP HC-C HC		Ajustement CP T-C HC		Ajustement CP HC-C HC	
	Cinétique HC	Cinétique LC	Cinétique HC	Cinétique LC	Cinétique HC	Cinétique LC
$D_{s\ EBC}(\text{cm.s}^{-1})$	$9,33 \times 10^{-13}$	$2,27 \times 10^{-10}$	$9,20 \times 10^{-13}$	$4,06 \times 10^{-8}$	$3,16 \times 10^{-10}$	$2,92 \times 10^{-9}$
$k_{f\ EBC}(\text{s}^{-1})$	$1,28 \times 10^{-2}$	$2,25 \times 10^{-2}$	$1,02 \times 10^{-2}$	$1,23 \times 10^{-1}$	$9,08 \times 10^{-2}$	$3,14 \times 10^{-1}$
Nombre de Biot	439,3	1355	360,3	0,1	2,4	0,9
Erreur de la simulation (%)	10,5	237,0	10,8	209,8	3,2	15,4

Tableau III.24 Paramètres cinétiques et Nombre de Biot de l'EBC, et erreur de la simulation de l'adsorption en compétition à haute et basse concentrations du bisphénol A sur CAP F400 dans l'eau de puits et l'eau du Meu, avec le modèle Langmuir pour l'EBC

	Modèle d'équilibre de Langmuir pour l'EBC							
	BPA/F400/eau du Meu		BPA/F400/eau de puits					
	Ajustement CP T-C T		Ajustement CP HC-C HC		Ajustement CP T-C HC		Ajustement CP T-C T	
	Cinétique HC	Cinétique LC	Cinétique HC	Cinétique LC	Cinétique HC	Cinétique LC	Cinétique HC	Cinétique LC
$D_{s\ EBC}(\text{cm.s}^{-1})$	$5,69 \times 10^{-11}$	$4,27 \times 10^{-10}$	$4,07 \times 10^{-11}$	-	$1,34 \times 10^{-10}$	-	$3,90 \times 10^{-11}$	$3,88 \times 10^{-6}$
$k_{f\ EBC}(\text{s}^{-1})$	$2,26 \times 10^{-1}$	$3,31 \times 10^{-1}$	$1,28 \times 10^{-2}$	-	$3,08 \times 10^{-2}$	-	$3,97 \times 10^{-2}$	$9,99 \times 10^{-2}$
Nombre de Biot	70,7	13,8	8,7	-	6,0	-	10,5	$2,65 \times 10^{-4}$
Erreur de la simulation (%)	2,0	4,7	9,4	-	7,5	-	6,3	34,2

### IV.3.3. EXTRAPOLATION DES CINÉTIQUES D'ADSORPTION COMPÉTITIVE A BASSE CONCENTRATION

La simulation des cinétiques d'adsorption prennent en compte dans l'approche HSDM les paramètres d'équilibre et de cinétique du corps pur et de l'EBC, déterminés dans les parties précédentes. Ces paramètres ont globalement permis de simuler les cinétiques d'adsorption compétitive. L'extrapolation des cinétiques en corps pur s'est avérée satisfaisante puisque des erreurs inférieures à 30 % ont été obtenues. Dans cette nouvelle partie, nous évaluerons les capacités d'extrapolation aux basses concentrations de l'approche HSDM vis-à-vis des cinétiques d'adsorption compétitive.

Pour les quatre cas simulés dans la partie précédente et pour chaque ajustement, deux extrapolations ont été testées. L'extrapolation totale qui nécessite les paramètres cinétiques du corps pur et de l'EBC déterminés à haute concentration. L'extrapolation partielle, quant à elle, requiert les coefficients  $k_f$  et  $D_s$  du composé cible pour les manipulations effectuées en eau ultra pure et à basse concentration, et un coefficient transfert de masse externe de l'EBC ( $k_{f,EBC}$ ) relatif aux conditions hydrodynamiques des cinétiques à basse concentration, déterminé à l'aide du ratio des coefficients  $k_f$  des composés cibles relatifs aux hautes et basses concentrations.

La figure III.26 montre les simulations et extrapolations totales des cinétiques d'adsorptions à haute et basse concentration, respectivement. Et le tableau III.25 indique les erreurs de simulation et d'extrapolation des cinétiques à basse concentration pour les triplets et ajustements étudiés. La méthodologie pour l'extrapolation partielle des cinétiques d'adsorption a conduit à des erreurs supérieures à celles relatives à l'extrapolation totale. Ces résultats n'apparaissent donc ni dans la figure III.26 ni dans le tableau III.25.

Bien que la concentration de l'EBC reste constante, l'association des paramètres cinétiques des composés cibles relatifs à la basse concentration et du coefficient  $D_s$  de l'EBC relatif à la haute concentration conduit à une mauvaise extrapolation. Cette constatation n'est pas étonnante au regard des résultats obtenus dans la partie précédente. En effet, nous avons vu que la dilution des composés cibles avait non seulement pour effet de diminuer la valeur de leur coefficient  $D_s$  mais aussi d'augmenter la diffusion de surface de l'EBC. Ainsi, il semble que les cinétiques d'adsorption en corps purs à basse concentration soient déterminantes pour la simulation et non l'extrapolation des cinétiques d'adsorption compétitive à basse concentration.

Modèles d'équilibre du corps pur et de l'EBC : LF et F

Modèles d'équilibre du corps pur et de l'EBC : LF et L

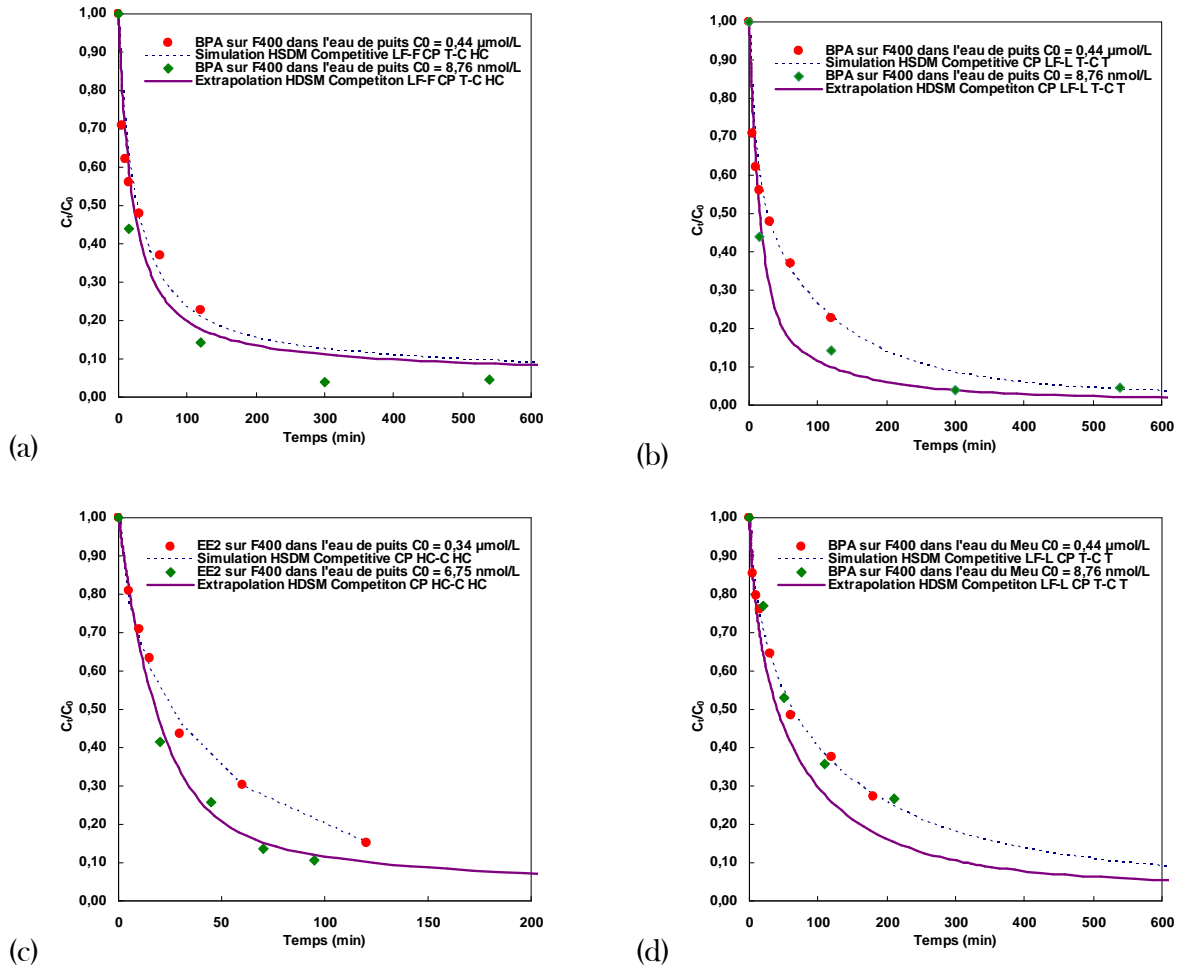


Figure III.26 Cinétiques d'adsorption en corps pur du bisphénol A et de l'éthinylestradiol sur les CAP F400 et NC 90, à haute concentration simulées par le modèle HSDM et à basse concentration extrapolées ( $C_{\text{charbon}} = 5 \text{ mg.L}^{-1}$ )

Tableau III.25 Erreurs de simulation et d'extrapolation des cinétiques d'adsorption à basse concentration du bisphénol A et de l'éthinylestradiol sur le CAP F400 dans l'eau de puits et l'eau du Meu, et leur ratio

Modèle d'équilibre de l'EBC	Ajustement des modèles d'équilibre	Erreur à basse concentration (%)								
		BPA/F400/eau du Meu			BPA/F400/eau de puits			EE2/F400/eau de puits		
		Extrapolation Totale	Simulation	Ratio	Extrapolation Totale	Simulation	Ratio	Extrapolation Totale	Simulation	Ratio
Freundlich	CP HC-C HC	-	-	-	92,0	237,0	0,4	6,4	15,4	0,4
	CP T-C HC	-	-	-	82,1	209,8	0,4	-	-	-
Langmuir	CP HC-C HC	-	-	-	25,9	-	-	-	-	-
	CP T-C HC	-	-	-	41,6	-	-	-	-	-
	CP T-C T	24,3	4,7	8,1	25,9	34,2	0,8	-	-	-

L'utilisation des paramètres cinétiques du corps pur et de l'EBC tous deux déterminés dans la gamme haute de concentration a donné de meilleurs résultats. La figure III.26 et le tableau III.25 montrent que l'approche HSDM permet l'extrapolation totale des cinétiques d'adsorption compétitive. L'erreur d'extrapolation moyenne est de 37 % ; rappelons qu'en fin de cinétique les concentrations en phase liquide sont de l'ordre de 100 ng.L<sup>-1</sup>. Les intervalles de confiance des données expérimentales incluent les cinétiques prédites, ce qui permet d'apprécier la justesse de l'extrapolation vis-à-vis de l'erreur de l'analyse. Pour le triplet BPA/F400/eau de puits, il semble qu'utiliser le modèle de Langmuir pour représenter l'équilibre de l'EBC permet d'effectuer une extrapolation plus juste. Ces résultats sont encourageants néanmoins cette dernière partie de l'étude nécessite des manipulations supplémentaires afin de confirmer les premiers chiffres obtenus et étudier l'effet du type et de l'ajustement des modèles d'équilibre utilisés.

L'étude de la cinétique d'adsorption compétitive de composés organiques à basse concentration a déjà été étudiée par le passé. Au cours de deux études sur des perturbateurs endocriniens, deux approches voisines ont permis de prédire les courbes de percée des composés d'intérêt. Knappe *et al.*, (1997) ont évalué sur une petite colonne d'adsorption dans sa capacité de prédiction de l'adsorption de l'atrazine sur des filtres à charbon actif de taille pilote. La colonne d'adsorption a été dimensionnée de telle sorte qu'elle reproduise les performances des filtres plus volumineux mais pour des temps d'étude plus courts (24 h). Pour un charbon actif vierge en début de manipulation et un autre âgé de 5 mois, les performances du lit de charbon ont été prédites de manière satisfaisante par la colonne d'adsorption. Pour les deux réacteurs, les conditions expérimentales –et notamment la concentration du composé cible- se devaient d'être similaires. Yu *et al.* (2009a, b) ont étudié l'évolution des paramètres d'équilibre et cinétiques de composés pharmaceutiques et du nonylphénol en fonction de l'âge du charbon actif –et donc de la quantité de MON pré-adsorbée- et ont associé cette évolution à la prédiction des performances d'adsorption d'un réacteur lit fixe. Les paramètres d'adsorption ont été déterminés à l'aide d'équilibres isothermes d'adsorption en réacteur batch. Et ils ont utilisé un réacteur lit fixe de taille réduite pour déterminer les paramètres cinétiques d'adsorption, obtenus à l'aide d'un modèle qui prend en compte le transfert de masse externe, et les diffusions poreuse et superficielle (Pore and Surface Diffusion Model). La prédiction des courbes de percée des composés étudiés était en accord avec les données expérimentales. Là encore, la concentration des composés cibles était identique pour les manipulations sur les unités pilote et réduite. Les résultats de notre étude semblent montrer que l'utilisation de paramètres d'adsorption du corps pur et de la MON obtenus haute concentration peuvent permettre l'extrapolation des cinétiques

d'adsorption à basse concentration. Il peut ainsi être envisagé d'inclure l'effet de la concentration dans la prédiction des courbes de percée et de permettre de réaliser les manipulations à échelle réduite dans des conditions synonymes d'une analyse chimique plus simple.

#### IV.4.CONCLUSION

Les manipulations de cinétique d'adsorption en corps pur et en compétition du bisphénol A et de l'éthinylestradiol ont été effectuées sur les charbons actifs en poudre F400 et NC 90 afin de déterminer les paramètres cinétiques des composés cibles ( $k_f$  et  $D_s$ ) et de la MON, représentée par le composé fictif (EBC) ( $k_{f \text{ EBC}}$  et  $D_{s \text{ EBC}}$ ). Les résultats expérimentaux ont été modélisés par l'approche HSDM, à l'aide du programme informatique ADSORPA développé au laboratoire CIP par Baup (2000).

En corps pur, deux niveaux de concentration ont été étudiés. Les manipulations à haute concentration ont montré que l'approche HSDM permet de représenter de façon satisfaisante la cinétique d'adsorption des composés cibles sur les CAP étudiés. De plus, nous avons constaté que la diffusion superficielle des composés cibles diminue avec la concentration, confirmant les résultats de Noll *et al.* (1992). Une variation de la valeur de  $k_f$  a également été observée, celle-ci a été attribuée à la différence de géométrie des réacteurs employés pour les tests aux deux niveaux de concentration. Enfin, l'extrapolation des cinétiques d'adsorption à basse concentration à partir des coefficients déterminés à haute concentration a été réalisée avec moins de 30 % d'erreur, à condition de disposer des données expérimentales exactes. En effet, l'erreur de l'analyse peut conduire à l'optimisation des paramètres cinétiques erronés, qui seront incapables de fournir une extrapolation à basse concentration juste.

En adsorption compétitive, la modélisation des cinétiques et la détermination des paramètres d'adsorption de certains triplets polluant/charbon/eau naturelle n'ont pu être effectuées en raison d'erreurs dans la résolution numérique des équations du modèle HSDM. L'utilisation des modèles de Langmuir et Langmuir-Freundlich pour représenter les équilibres du corps pur et de l'EBC est probablement à l'origine de ces erreurs. Néanmoins, des résultats plus qu'encourageants ont été obtenus. L'association des paramètres d'équilibre et cinétiques en corps pur et en compétition déterminés dans ce travail a permis non seulement de modéliser les cinétiques d'adsorption compétitive de plusieurs triplets mais aussi d'en effectuer la simulation basse concentration par extrapolation. Les valeurs de Biot nous ont permis de déduire que le transfert de masse externe et la diffusion superficielle sont des mécanismes limitants dans la

cinétique d'adsorption de l'EBC pour les triplets étudiés. Bien que la concentration de la MON ne varie pas, nous avons observé une augmentation de la valeur de  $D_{s\ EBC}$  pour les cinétiques d'adsorption à basse concentration. Ce phénomène pourrait être causé par le composé cible qui voit son coefficient de diffusion diminuer avec la concentration. Cette relation inverse entre les diffusions des co-adsorbats rejoint les observations de Dudamel (2005) sur l'adsorption de pesticides. Des manipulations supplémentaires sont nécessaires afin de confirmer ces résultats, et notamment d'étudier l'effet de l'ajustement des modèles d'équilibre sur la justesse des simulations et des extrapolations.

## **V. SYNTHÈSE SUR LA METHODOLOGIE D'EXTRAPOLATION**

### **V.1. INTRODUCTION**

A l'issue de ce chapitre dédié à l'adsorption de perturbateurs endocriniens sur charbon actif, nous pouvons proposer une méthodologie afin de déterminer les paramètres d'équilibre et cinétiques de ces micropolluants. Cette méthodologie repose sur une série de manipulations à effectuer et des modèles à appliquer sur les données expérimentales obtenues. L'erreur d'extrapolation des performances d'adsorption varie en fonction du type de manipulations et de l'ajustement des modèles. Nous présenterons un protocole qui donnera, à partir des résultats obtenus dans ce travail, les manipulations et les modèles qui permettent d'effectuer les meilleures extrapolations et une estimation des erreurs.

### **V.2. MANIPULATIONS ET DETERMINATION DES PARAMETRES D'ADSORPTION**

La figure III.27 montre la démarche suivie pour la détermination des paramètres d'équilibre et de cinétique d'adsorption du corps pur et de l'EBC.



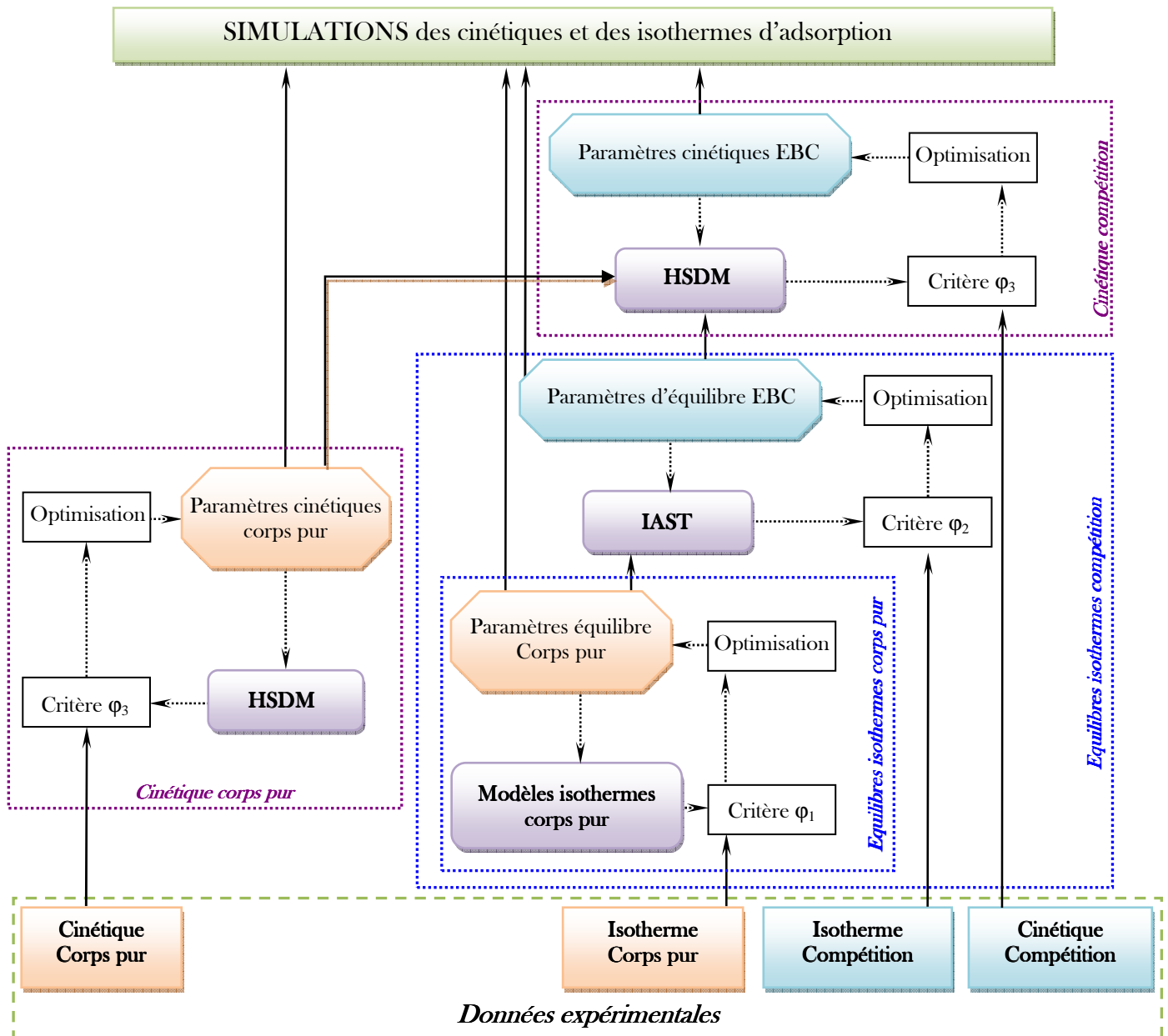


Figure III.27 Démarche de la modélisation et de la simulation des isothermes et cinétiques d'adsorption en corps pur et en compétition (Jouët, 2009)

Les paramètres d'équilibre et cinétiques des composés cibles et de leur EBC obtenus par notre méthodologie sont destinés à être utilisés pour la modélisation globale des performances d'adsorption dans les conditions réelles (basse concentration, lit fixe) (Figure III.2). Lors de cette étude, les erreurs d'extrapolation ont été déterminées par rapport aux manipulations à basse concentration, mais pour un réacteur type batch. Ainsi, les erreurs données dans ce protocole permettent d'évaluer la capacité d'extrapolation des modèles utilisés et la validité des paramètres obtenus des ajustements, pour un réacteur agité discontinu. Ces erreurs ne sont donc pas directement attribuables aux extrapolations des performances de l'adsorption en réacteur lit fixe.

Néanmoins, elles constituent un aperçu de la capacité d'extrapolation des modèles cinétiques et d'équilibre utilisés, avec les paramètres déterminés.

Nos résultats ont montré que les capacités d'adsorption compétitive à basse concentration des composés cibles peuvent être déterminées par extrapolation partielle ou totale, c'est-à-dire avec ou sans le concours des manipulations d'équilibres isothermes d'adsorption en corps pur à basse concentration, respectivement. Ainsi, deux cas se distinguent :

- L'extrapolation totale des performances d'adsorption est l'association des extrapolations totales des capacités et des cinétiques d'adsorption, et
- l'extrapolation partielle des performances fait intervenir l'extrapolation partielle des capacités d'adsorption.

#### Extrapolation totale des performances d'adsorption

Dans la figure III.27, toutes les données expérimentales proviennent uniquement de manipulations à haute concentration. Le modèle de Langmuir ou celui de Langmuir-Freundlich représente le composé cible. Le modèle de Langmuir représente également l'EBC dans l'approche IAST, ajustée sur les données en compétition. Pour cinq des six triplets étudiés, le modèle de Langmuir a été utilisé pour représenter l'équilibre d'adsorption des deux co-adsorbats, et a conduit à une extrapolation totale dont l'erreur moyenne était égale à 87 %. L'association de ces modèles et paramètres d'équilibre aux données expérimentales des cinétiques d'adsorption en eau ultra pure et naturelle à haute concentration dans l'approche HSDM permet l'extrapolation totale des cinétiques. Les erreurs dans la résolution numérique des équations du modèle cinétique n'ont pas permis d'obtenir les extrapolations des cinétiques relatives à ces conditions. Néanmoins, les résultats du tableau III.25 a montré une erreur moyenne de 37 %.

#### Extrapolation partielle des performances d'adsorption

Dans ce cas, une isotherme d'adsorption en corps pur et à basse concentration est effectuée afin d'ajuster le modèle d'équilibre du composé cible sur une gamme de concentration plus large. Les données expérimentales de l'isotherme corps pur dans la figure III.27 correspondent aux résultats des isothermes à haute et basse concentrations. Les autres données expérimentales correspondent à des manipulations effectuées uniquement à haute concentration. Le modèle de Langmuir-Freundlich représente le composé cible et le modèle de Langmuir décrit l'équilibre de l'EBC. Pour les 6 triplets étudiés, ces modèles d'équilibre associés à

L'approche IAST-EBC ont permis l'extrapolation partielle des capacités d'adsorption avec une erreur moyenne de 85 %. Deux ajustements des modèles d'équilibre (CP HC-C HC et CP T-C HC) correspondant à deux séries de paramètres pour le composé cible et l'EBC peuvent être associés au modèle HSDM. Cependant, les résultats obtenus pour les cinétiques d'adsorption compétitive n'ont pas permis d'observer un effet de l'ajustement des modèles d'équilibre des co-adsorbats sur l'erreur de l'extrapolation totale des cinétiques. Ainsi, il nous est pour l'instant impossible d'indiquer quel ajustement sélectionner dans le but d'obtenir la meilleure extrapolation des cinétiques d'adsorption compétitive. Néanmoins, comme pour l'extrapolation totale de performances, nos résultats montrent qu'une erreur d'extrapolation totale des cinétiques d'adsorption compétitive acceptable peut être attendue.

### V.3. CONCLUSION

Les résultats des équilibres et des cinétiques d'adsorption réalisés lors de cette étude ont permis d'identifier les modèles les plus indiqués pour l'extrapolation des performances d'adsorption. Ainsi, il semble que le modèle de Langmuir pour le composé cible et le composé fictif permette d'obtenir des paramètres qui conduisent à une extrapolation des équilibres et des cinétiques d'adsorption compétitive en réacteur batch avec une erreur moyenne inférieure à 100 %. L'extrapolation partielle n'étant pas beaucoup plus juste que l'extrapolation totale, l'ajustement du modèle d'équilibre du composé cible sur l'isotherme global n'est pas indispensable. Ainsi, le protocole expérimental de la méthodologie d'extrapolation peut se limiter uniquement des manipulations à haute concentration, si l'on accepte une erreur d'environ 100 % dans la prédiction des performances d'adsorption.

## VI. CONCLUSION

Le but de cette étude était l'évaluation de la capacité de modèles d'équilibre et cinétiques à extrapoler les performances d'adsorption dans des conditions réelles, c'est-à-dire à l'état de traces et en compétition avec la matière organique. Une extrapolation juste permettrait de s'affranchir des manipulations à basse concentration pour la modélisation globale de l'adsorption, plus complexes et plus onéreuses notamment vis-à-vis de l'analyse chimique.

L'étude des équilibres d'adsorption à haute et basse concentrations a permis de déterminer que le modèle de Langmuir permet, dans la plupart des cas, les extrapolations des capacités d'adsorption en corps pur. Cependant, le modèle Langmuir-Freundlich s'est avéré être le plus indiqué pour représenter l'équilibre d'adsorption des composés cibles sur toute la gamme de concentration. Pour ce modèle, la cohérence de nos résultats avec la littérature conforte la validité et la signification des paramètres d'adsorption obtenus.

L'étude de l'adsorption compétitive a montré un effet de compétition supérieur de la MON lorsque les perturbateurs endocriniens étudiés sont très dilués, confirmant les résultats d'études antérieures disponibles dans la littérature. L'approche IAST associée au concept du composé fictif (EBC) a permis de simuler ce phénomène de façon satisfaisante sur une large gamme de concentration, lorsque le modèle de Langmuir-Freundlich représente le composé cible et l'EBC. Et la meilleure extrapolation totale des capacités d'adsorption, c'est-à-dire à partir de données en corps pur et en compétition obtenues uniquement à haute concentration, requiert dans la plupart des cas étudiés le modèle de Langmuir pour les deux co-adsorbats. Cependant, dans ce cas, l'erreur de la simulation à basse concentration augmente significativement. D'autres manipulations seraient en mesure de dire si des données supplémentaires ou plus précises permettraient de réduire cette augmentation. Il faut tout de même signaler que l'erreur d'extrapolation totale pour des concentrations de l'ordre de  $10 \text{ ng.L}^{-1}$  est comparable à l'erreur de l'analyse par UPLC-MS/MS.

L'application du modèle HSDM aux manipulations de cinétique d'adsorption en corps pur à haute et basse concentrations a confirmé la diminution du coefficient de diffusion de surface ( $D_s$ ) avec la concentration du composé cible. Les manipulations ont également montré l'impact de l'erreur de l'analyse : pour certains couples un manque de cohérence entre les coefficients déterminés aux deux niveaux de concentration a été observé. En adsorption compétitive, le coefficient de diffusion de l'EBC s'est avéré être inversement corrélé à la diffusion du composé cible. Une augmentation de la valeur du  $D_{S \text{ EBC}}$  a été observée pour les

cinétiques d'adsorption compétitive à basse concentration. Les résultats de l'extrapolation des cinétiques d'adsorption ont montré que les paramètres cinétiques des co-adsorbats obtenus à haute concentration permettent une extrapolation encourageante aux basses concentrations. Quelques manipulations supplémentaires permettraient de confirmer ces résultats et d'étudier l'impact de l'ajustement des modèles d'équilibre sur la simulation et l'extrapolation des cinétiques.

Au vu des résultats obtenus, une méthodologie d'obtention des paramètres d'équilibre et cinétiques permettant la prédiction des performances d'adsorption en conditions réelles à partir uniquement de manipulations effectuées à haute concentration peut d'ores et déjà être avancée. Des erreurs inférieures à 100 % pour les isothermes et cinétiques extrapolées peuvent être attendues. Nous rappelons que ces erreurs sont relatives à des concentrations en phase liquide de l'ordre de quelques  $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$  et que l'erreur de l'analyse par UPLC-MS/MS déterminée dans le Chapitre précédent est, par exemple, de l'ordre de 65 % pour un échantillon de bisphénol A de l'ordre de  $10 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$  et dans l'eau naturelle.

## **CONCLUSION GENERALE**



## CONCLUSION GENERALE

La présence des perturbateurs endocriniens dans les eaux de surface et souterraines utilisées comme ressources d'eau potable constitue un risque potentiel pour la Santé Publique. Des études *in vivo* effectuées sur des poissons mâles ont montré des phénomènes de féminisation après une exposition, parfois courte, à ce type de molécules. Et l'analyse des différents compartiments de l'environnement aquatique dévoile continuellement l'ampleur et l'étendue de la contamination. Ces polluants émergents génèrent donc des inquiétudes et des interrogations concernant l'efficacité des traitements de l'eau destinée à la consommation humaine.

L'adsorption sur charbon actif est un procédé de traitement d'eau potable conçu pour éliminer les molécules organiques. C'est une étape de la filière de production d'eau dont l'efficacité a été montrée vis-à-vis d'autres types de micropolluants. Cependant, avec des seuils de bioactivité aussi bas que  $0,1 \text{ ng.L}^{-1}$ , certains perturbateurs endocriniens nécessitent une attention particulière en termes d'élimination. Ce procédé de traitement doit donc être évalué quant à sa capacité à abattre les concentrations de ces polluants à des seuils jusqu'à 1000 fois plus bas que ceux établis pour les produits phytosanitaires. A ce niveau de concentration, les manipulations d'équilibre et de cinétiques d'adsorption, nécessaires au dimensionnement du procédé, impliqueraient l'utilisation de méthodes d'analyse lourdes et coûteuses. Une alternative est la réalisation de manipulations à plus forte concentration couplée à l'utilisation de la modélisation pour obtenir par extrapolation les informations recherchées.

L'objectif général de cette étude était le développement d'une méthodologie permettant de déterminer les paramètres d'équilibre et cinétiques d'adsorption des perturbateurs endocriniens dans les conditions environnementales. Notre étude a comporté deux phases : tout d'abord le développement et la validation de méthodes d'analyse du bisphénol A et de l'éthinylestradiol dans l'eau ultra pure et l'eau naturelle, puis l'évaluation des capacités d'extrapolation des modèles d'adsorption couramment employés dans le traitement de l'eau, au moyen de manipulations d'équilibre et de cinétiques d'adsorption au  $\mu\text{g.L}^{-1}$ , puis au  $\text{ng.L}^{-1}$ .

Dans un premier temps, nous avons développé les méthodes d'analyse des composés cibles. Deux types d'échantillon, correspondant à deux niveaux de concentration, ont été analysés. Les échantillons de l'ordre du  $\mu\text{g.L}^{-1}$  ont été injectés directement, tandis qu'une étape



d'extraction sur phase solide a été optimisée pour les échantillons, d'eau ultra pure et d'eau naturelle, de l'ordre du  $\text{ng.L}^{-1}$ . Les analytes ont été extraits de façon satisfaisante sur la phase adsorbante Sep Pak C18 (phase de silice greffée) et au selon un protocole d'extraction inspiré de la littérature (Braunrath et Cichna, 2005). L'analyse des échantillons par HPLC couplée à un détecteur fluorimétrique (HPLC-Fluo) et par UPLC couplée à un spectromètre de masse en tandem (UPLC-MS/MS) s'est effectuée dans des conditions classiques d'élution.

Les résultats de trois gammes étalons, l'une préparée au  $\mu\text{g.L}^{-1}$  et les deux autres préparées au  $\text{ng.L}^{-1}$  dans l'eau ultra pure et naturelle, ont été évalués selon le protocole de validation de méthode de l'AFNOR. Deux campagnes de validation ont été entreprises. La première concernait les deux molécules cibles alors que la seconde traitait uniquement de l'éthinylestradiol. Pour les deux campagnes, tous les tests du protocole ont validé les méthodes d'analyse, à l'exception du test de stabilité de la répétabilité pour la méthode UPLC-MS/MS.

L'hétéroscédasticité de la variance du signal du spectromètre de masse en fonction de la concentration est à l'origine de ce problème. Pour compenser et intégrer les effets de cette hétéroscédasticité, un traitement des données différent a dû être mis en œuvre pour le calcul des paramètres de la droite d'étalonnage, des limites de détection et de quantification, et des intervalles de confiance. Repartant des fondements statistiques de ces paramètres, différents modèles d'hétéroscédasticité ont été comparés dans le cadre d'une régression linéaire pondérée et de la détermination des limites. Les résultats ont montré de meilleures limites de détection de l'UPLC-MS/MS. Cependant, des limites de quantification élevées ont été obtenues pour ce système d'analyse en raison de l'augmentation de la variance du signal avec la concentration. Dans certains cas, la variance élevée du signal du spectromètre de masse n'a pas permis le calcul de cette limite. Les intervalles de confiance déterminés dans cette partie pour les deux niveaux de concentration ont été reportés sur les résultats expérimentaux des équilibres et cinétiques d'adsorption.

Nous avons étudié les effets des matrices eau ultra pure et eau naturelle sur les performances des deux méthodes d'analyse. Aucun effet de matrice significatif n'a été observé pour la méthode d'analyse par HPLC-Fluo, quel que soit le type d'eau. En UPLC-MS/MS, les variations du signal de l'éthinylestradiol ont logiquement été compensées par l'utilisation de l'estrone, un analogue structural, en tant qu'étalon interne. En revanche, une différence de comportement à l'ionisation a montré une surcompensation des effets de matrice sur l'ionisation du bisphénol A. Néanmoins, un rendement acceptable de 114 % a été obtenu pour le plastifiant.

La seconde partie de notre étude avait pour but le développement d'une méthodologie qui permet d'obtenir les paramètres d'équilibre et cinétiques des perturbateurs endocriniens, et les modèles associés pour déterminer par extrapolation, le plus justement possible, les performances d'adsorption du charbon actif en conditions naturelles. Dans un premier temps, les manipulations d'équilibre d'adsorption en corps pur au  $\mu\text{g.L}^{-1}$  et au  $\text{ng.L}^{-1}$  ont été effectuées pour quatre couples charbon/polluant. Les modèles de Langmuir et de Langmuir-Freundlich, ont été les plus justes dans l'extrapolation des capacités d'adsorption. Cependant, les erreurs obtenues étaient parfois élevées. Sur toute la gamme de concentration, le modèle de Langmuir-Freundlich a été systématiquement le plus fidèle au phénomène d'adsorption des composés étudiés.

Les équilibres d'adsorption dans l'eau naturelle effectués à deux niveaux de concentration ont mis en évidence l'effet de l'adsorption compétitive de la matière organique naturelle, d'autant plus important que le composé cible est dilué. La simulation sur la gamme totale de concentration ainsi que deux niveaux d'extrapolation ont été effectués à partir des résultats expérimentaux. L'approche IAST associée au concept du composé fictif (EBC) a permis de décrire l'adsorption sur la gamme totale de concentration de façon satisfaisante. L'utilisation du modèle corps pur de Langmuir-Freundlich a conduit aux simulations les plus justes avec une erreur moyenne maximale de 34 %. L'extrapolation entraîne une perte de précision qui reste cependant raisonnable compte tenu des incertitudes expérimentales.

Le modèle de diffusion de surface homogène (HSDM) a été utilisé avec succès pour modéliser les cinétiques d'adsorption, à haute et à basse concentration, et déterminer les paramètres cinétiques  $k_f$  et  $D_s$ . Selon les valeurs du Biot, ces deux paramètres régissent la cinétique d'adsorption du composé cible, en adsorption corps pur, comme en compétition. Dans l'eau ultra pure, une diminution de la valeur des coefficients diffusion de surface en fonction de la concentration des composés cibles a été observée. Ces constatations sont cohérentes avec la littérature (Noll *et al.*, 1992). En compétition, une variation inversée des valeurs du coefficient  $D_{s,EBC}$  a été observée, il semble que les molécules en compétition diffusent plus vite à l'état adsorbé lorsque le composé cible est dilué ce qui est cohérent avec une diffusion de surface avec une plus grande disponibilité des sites. Les résultats d'extrapolation des cinétiques d'adsorption sont encourageants, affichant une erreur moyenne de 37 %.

Des manipulations supplémentaires devraient permettre de consolider les prévisions avancées, en particulier au niveau des équilibres corps purs. Néanmoins, au vu des résultats

obtenus, il semble que la prévision des performances d'adsorption des filtres de charbon actif dans les conditions réelles à partir de données à haute concentration soit réalisable.

Quelques améliorations pourraient être apportées à la méthode d'analyse par UPLC-MS/MS. En effet, compte tenu de certaines limites de quantification élevées, il pourrait être envisagé d'augmenter le facteur de concentration lors de l'étape d'extraction, dans le but d'être capable de mesurer des quantités plus faibles de produits. De plus, pour une application de cette méthode d'analyse à des fins d'étude d'occurrence dans l'environnement aquatique, un étalon interne deutéré ou une molécule absente des eaux environnementales devra remplacer l'estrone. La méthodologie d'étude des effets de matrice pourrait ainsi être testée pour un autre type d'étalon interne.

L'hétéroscédasticité de la variance du signal du spectromètre de masse a été montrée lors de notre étude. Cette propriété du détecteur a eu un fort impact sur les limites de quantification calculées. Un autre regard doit être porté sur la précision des résultats obtenus de ce type de détecteur. Même si le cas de l'hétéroscédasticité est abordé dans le protocole de validation de l'AFNOR, il l'est uniquement pour indiquer qu'il faut employer une régression pondérée, sans plus de détail, ni d'indication sur les précautions à prendre pour l'estimation des limites. Il n'y a pas de véritable solution proposée pour l'évaluation une méthode d'analyse soumise à ce type de variation. Compte tenu de l'évolution des méthodes d'analyse par LC-MS dans le domaine de l'analyse environnemental et de la recherche de limites détections toujours plus basses, cette singularité devra être examinée de plus près par les organismes de normalisation.

Les résultats de l'étude d'adsorption ont montré que l'extrapolation des performances d'adsorption à basse concentration à partir de manipulations effectuées uniquement à haute concentration est réalisable. L'étape subséquente à notre étude est, bien évidemment dans un premier temps la multiplication des triplets polluant/charbon/eau naturelle afin de consolider les premiers résultats obtenus, mais aussi l'optimisation des conditions expérimentales qui permettraient l'obtention de paramètres fondamentaux. Par exemple, le modèle de Langmuir-Freundlich décrit de façon satisfaisante les équilibres des composés étudiés, à haute et à basse concentration. Il existe donc un seul jeu de paramètres par couple polluant/charbon pour toute la gamme de concentration. Le but serait de déterminer dans quelles conditions expérimentales (concentration des polluants, nombre de points de l'isotherme...) il est possible d'obtenir ces paramètres à haute concentration assurément. L'objet de notre étude était d'identifier les

modèles extrapolables à basse concentration, une suite à ce travail serait de trouver les conditions expérimentales qui permettraient la détermination plus fiable et robuste des paramètres.

Au terme de la partie analyse de cette étude, nous avons déterminé les intervalles de confiance sur la valeur estimée par les deux méthodes d'analyse. Ces intervalles de confiance représentent un doute sur la valeur expérimentale obtenue. Cependant, lors de la modélisation, ces valeurs sont considérées exactes, par le simple fait qu'elles servent parfois de référence dans l'optimisation : les valeurs de paramètres sont optimisées en minimisant l'écart entre le modèle et l'expérience. Pour donner plus de souplesse à l'optimisation et ne pas considérer de la même façon deux points dont la précision est très différente, en raison de l'analyse des échantillons par un appareil à variance hétéroscédastique par exemple, l'erreur pourrait être prise en compte par les programmes d'optimisation.



## **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**



## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abiven, D. (2002). "Adsorption de pesticides sur charbon actif : Acquisition et étude des paramètres d'équilibre et de cinétique - Mise en œuvre du lit fluidisé en continu." Rennes.
- AFNOR. (1999). "Norme Française de validation de méthode d'analyse - XPT 90-210."
- Alcock, R. E., Sweetman, A., et Jones, K. C. (1999). "Assessment of organic contaminant fate in waste water treatment plants I: Selected compounds and physicochemical properties." *Chemosphere*, 38(10), 2247-2262.
- Almeida, C., et Nogueira, J. (2006). "Determination of steroid sex hormones in water and urine matrices by stir bar sorptive extraction and liquid chromatography with diode array detection." *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41(4), 1303-1311.
- Andersen, H., Siegrist, H., Halling-Sorensen, B., et Ternes, T. (2003). "Fate of Estrogens in a Municipal Sewage Treatment Plant." *Environmental Science & Technology*, 37(18), 4021-4026.
- Ankley, G., Mihaich, E., Stahl, R., Tillitt, D., Colborn, T., McMaster, S., Miller, R., Bantle, J., Campbell, P., Denslow, N., Dickerson, R., Folmar, L., Fry, M., Giesy, J., Gray, L. E., Guiney, P., Hutchinson, T., Kennedy, S., Kramer, V., LeBlanc, G., Mayes, M., Nimrod, A., Patino, R., Peterson, R., Purdy, R., Ringer, R., Thomas, P., Touart, L., Van Der Kraak, G., et Zacharewski, T. (1998). "Overview of a workshop on screening methods for detecting potential (anti-) estrogenic/androgenic chemicals in wildlife." *Environmental Toxicology and Chemistry*, 17(1), 68-87.
- Arcand-Hoy, L. D., Nimrod, A. C., et Benson, W. H. (1998). "Endocrine-modulating substances in the environment: Estrogenic effects of pharmaceuticals products." *International Journal of Toxicology*, 17(2), 139-158.
- Baker, V. A. (2001). "Endocrine disruptors-- testing strategies to assess human hazard." *Toxicology in Vitro*, 15(4-5), 413-419.
- Barcelo, D., et Petrovic, M. (2007). "Challenges and achievements of LC-MS in environmental analysis: 25 years on." *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 26(1), 2-11.
- Baronti, C., Curini, R., D'Ascenzo, G., Di Corcia, A., Gentili, A., et Samperi, R. (2000). "Monitoring Natural and Synthetic Estrogens at Activated Sludge Sewage Treatment Plants and in a Receiving River Water." *Environmental Science & Technology*, 34(24), 5059-5066.
- Baudu, M., Le Cloirec, P., et Martin, G. (1989). "Modélisation des isothermes d'adsorption sur charbon actif de composés aromatiques en solution aqueuse." *The Chemical Engineering Journal*, 41, 81-89.
- Baup, S. (2000). "Elimination de pesticides sur le charbon actif en grain en présence de matière organique naturelle - Elaboration d'un protocole couplant expériences et calculs numériques afin de simuler les équilibres et les cinétiques compétitifs d'adsorption." Rennes.



- Bautista-Toledo, I., Ferro-Garcia, M., Rivera-Utrilla, J., Moreno-Castilla, C., et VegasFernandez, F. (2005). "Bisphenol A Removal from Water by Activated Carbon. Effects of Carbon Characteristics and Solution Chemistry." *Environmental Science & Technology*, 39(16), 6246-6250.
- Beck, I., Bruhn, R., Gandrass, J., et Ruck, W. (2005). "Liquid chromatography-tandem mass spectrometry analysis of estrogenic compounds in coastal surface water of the Baltic Sea." *Journal of Chromatography A*, 1090(1-2), 98-106.
- Bedding, N. D., McIntyre, A. E., Perry, R., et Lester, J. N. (1983). "Organic contaminants in the aquatic environment II. Behaviour and fate in the hydrological cycle." *The Science of The Total Environment*, 26(3), 255-312.
- Belfroid, A. C., Van der Horst, A., Vethaak, A. D., Schafer, A. J., Rijs, G. B. J., Wegener, J., et Cofino, W. P. (1999). "Analysis and occurrence of estrogenic hormones and their glucuronides in surface water and waste water in The Netherlands." *The Science of The Total Environment*, 225(1-2), 101-108.
- Benijts, T., Lambert, W., et DeLeenheer, A. (2004). "Analysis of Multiple Endocrine Disruptors in Environmental Waters via Wide-Spectrum Solid-Phase Extraction and Dual-Polarity Ionization LC-Ion Trap-MS/MS." *Analytical Chemistry*, 76(3), 704-711.
- Benotti, M. J., Trenholm, R. A., Vanderford, B. J., Holady, J. C., Stanford, B. D., et Snyder, S. A. (2009). "Pharmaceuticals and Endocrine Disrupting Compounds in U.S. Drinking Water." *Environmental Science & Technology*, 43(3), 597-603.
- Birkett, D. J. W., et Lester, J. N. (2003). *Endocrine Disrupters in Wastewater and Sludge Treatment Processes*. Lewis Publishers.
- Blok, J., et Wösten, M. A. D. (2000). *Origin and Fate of Natural Estrogens in the Environment*. Pays-Bas.
- Bodzek, M., et Dudziak, M. (2006). "Elimination of steroidal sex hormones by conventional water treatment and membrane processes." *Desalination*, 198(1-3), 24-32.
- Bortone, S. A., et Cody, R. P. (1999). "Morphological Masculinization in Poeciliid Females from a Paper Mill Effluent Receiving Tributary of the St. Johns River, Florida, USA." *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 63(2), 150-156.
- Boti, V., Sakkas, V., et Albanis, T. (2007). "Measurement uncertainty arising from trueness of the analysis of two endocrine disruptors and their metabolites in environmental samples: Part II. Solid-phase extraction from environmental natural waters." *Journal of Chromatography A*, 1146(2), 148-156.
- Boyd, G. R., Reemtsma, H., Grimm, D. A., et Mitra, S. (2003). "Pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in surface and treated waters of Louisiana, USA and Ontario, Canada." *The Science of The Total Environment*, 311(1-3), 135-149.
- Branchereau, V., Fauchon, N., et Thibert, S. (2006). "Perturbateurs endocriniens et résidus médicamenteux dans les rivières d'Ile-de-France." *Techniques Sciences Méthodes*, (12), 69-79.
- Braunrath, R., et Cichna, M. (2005). "Sample preparation including sol-gel immunoaffinity chromatography for determination of bisphenol A in canned beverages, fruits and vegetables." *Journal of Chromatography A*, 1062(2), 189-198.

- Brossa, L., Marce, R. M., Borrull, F., et Pocurull, E. (2003). "Determination of endocrine-disrupting compounds in water samples by on-line solid-phase extraction-programmed-temperature vapourisation-gas chromatography-mass spectrometry." *Journal of Chromatography A*, 998(1-2), 41-50.
- Brown, J. R., Field, R. A., Goldstone, M. E., Lester, J. N., et Perry, R. (1996). "Polycyclic aromatic hydrocarbons in central London air during 1991 and 1992." *Science of The Total Environment*, 177(1-3), 73-84.
- Bruchet, A., et Janex-Habibi, M. (2004). "Les perturbateurs endocriniens dans les milieux aquatiques et les eaux potables. Etat des lieux." *Techniques Sciences Méthodes*, (4), 81-90.
- Butler, J. A. V., et Ockrent, C. (1930). "Studies in Electrocapillarity. III." *The Journal of Physical Chemistry*, 34(12), 2841-2859.
- Byrns, G. (2001). "The fate of xenobiotic organic compounds in wastewater treatment plants." *Water Research*, 35(10), 2523-2533.
- Campos, C., Snoeyink, V. L., Mariñas, B., Baudin, I., et Lainé, J. M. (2000). "Atrazine removal by powdered activated carbon in floc blanket reactors." *Water Research*, 34(16), 4070-4080.
- Cappiello, A., Famiglini, G., Palma, P., Pierini, E., Termopoli, V., et Trufelli, H. (2008). "Overcoming Matrix Effects in Liquid Chromatography–Mass Spectrometry." *Analytical Chemistry*, 80(23), 9343-9348.
- Carabias-Martinez, R., Rodriguez-Gonzalo, E., et Revilla-Ruiz, P. (2006). "Determination of endocrine-disrupting compounds in cereals by pressurized liquid extraction and liquid chromatography-mass spectrometry: Study of background contamination." *Journal of Chromatography A*, 1137(2), 207-215.
- Cargouët, M. (2003). "Evaluation du potentiel œstrogénique des eaux de surface de la région parisienne destinées à la production d'eau potable." Université Paris XI, Faculté de Pharmacie de Chatenay-Malabry.
- Cargouët, M., Perdiz, D., et Levi, Y. (2007). "Evaluation of the estrogenic potential of river and treated waters in the Paris area (France) using in vivo and in vitro assays." *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 67(1), 149-156.
- Cargouët, M., Perdiz, D., Mouatassim-Souali, A., Tamisier-Karolak, S., et Levi, Y. (2004). "Assessment of river contamination by estrogenic compounds in Paris area (France)." *Science of The Total Environment*, 324(1-3), 55-66.
- Casajua, N., et Lacorte, S. (2003). "Presence and release of phthalic esters and other endocrine disrupting compounds in drinking water." *Chromatographia*, 57(9), 649-655.
- Chang, S., Waite, T. D., Ong, P. E., Schäfer, A. I., et Fane, A. G. (2004). "Assessment of Trace Estrogenic Contaminants Removal by Coagulant Addition, Powdered Activated Carbon Adsorption and Powdered Activated Carbon/Microfiltration Processes.." *Journal of Environmental Engineering*, 130(7), 736-742.
- Chen, C., Wen, T., Wang, G., Cheng, H., Lin, Y., et Lien, G. (2007). "Determining estrogenic steroids in Taipei waters and removal in drinking water treatment using high-flow solid-phase extraction and liquid chromatography/tandem mass spectrometry." *Science of The Total Environment*, 378(3), 352-365.

- Chen, P., Rosenfeldt, E. J., Kullman, S. W., Hinton, D. E., et Linden, K. G. (2007). "Biological assessments of a mixture of endocrine disruptors at environmentally relevant concentrations in water following UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> oxidation." *Science of The Total Environment*, 376(1-3), 18-26.
- Choi, K., Kim, S., Kim, C., et Park, J. (2006). "Removal efficiencies of endocrine disrupting chemicals by coagulation/flocculation, ozonation, powdered/granular activated carbon adsorption, and chlorination." *Korean Journal of Chemical Engineering*, 23(3), 399-408.
- Choi, K. J., Kim, S. G., Kim, C. W., et Kim, S. H. (2005). "Effects of activated carbon types and service life on removal of endocrine disrupting chemicals: amitrol, nonylphenol, and bisphenol-A." *Chemosphere*, 58(11), 1535-1545.
- Churchwell, M. I., Twaddle, N. C., Meeker, L. R., et Doerge, D. R. (2005). "Improving LC-MS sensitivity through increases in chromatographic performance: Comparisons of UPLC-ES/MS/MS to HPLC-ES/MS/MS." *Journal of Chromatography B*, 825(2), 134-143.
- Clement, C., et Colborn, T. (1992). *Chemically induced alterations in sexual and functional development : The wildlife/human connection. Advances in modern toxicology Volume XXI*. Princeton Scientific Publishing Inc., Princeton, NJ.
- Coldham, N. G., Dave, M., Sivapathasundaram, S., McDonnell, D. P., Connor, C., et Sauer, M. J. (1997). "Evaluation of a Recombinant Yeast Cell Estrogen Screening Assay." *Environmental Health Perspectives*, 105(7), 734-742.
- Cortazar, E., Bartolome, L., Delgado, A., Etxebarria, N., Fernandez, L., Usobiaga, A., et Zuloaga, O. (2005). "Optimisation of microwave-assisted extraction for the determination of nonylphenols and phthalate esters in sediment samples and comparison with pressurised solvent extraction." *Analytica Chimica Acta*, 534(2), 247-254.
- Crittenden, J. C., Luft, P., et Hand, D. W. (1985). "Prediction of multicomponent adsorption equilibria in background mixtures of unknown composition." *Water Research*, 19(12), 1537-1548.
- Cuadros-Rodriguez, L., Bagur-Gonzalez, M. G., Sanchez-Vinas, M., Gonzalez-Casado, A., et Gomez-Saez, A. M. (2007). "Principles of analytical calibration/quantification for the separation sciences." *Journal of Chromatography A*, 1158(1-2), 33-46.
- Currie, L. A. (1999). "Nomenclature in evaluation of analytical methods including detection and quantification capabilities: (IUPAC Recommendations 1995)." *Analytica Chimica Acta*, 391(2), 105-126.
- Damstra, T. (2002). "Global assessment of the State-of-the-Science of endocrine disruptors."
- Davis, D. L., Bradlow, H. L., Wolff, M., Woodruff, T., Hoel, D. G., et Anton-Culver, H. (1993). "Medical hypothesis: xenoestrogens as preventable causes of breast cancer." *Environmental Health Perspectives*, 101(5), 372-377.
- De Kock, F. P., et Van Deventer, J. (1997). "An evaluation of isotherms in the description of competitive adsorption equilibria." *Chemical Engineering Communications*, 160(1), 35-58.
- De Orsi, D., Gagliardi, L., Porra, R., Berri, S., Chimenti, P., Granese, A., Carpani, I., et Tonelli, D. (2006). "A environmentally friendly reversed-phase liquid chromatography method for phthalates determination in nail cosmetics." *Analytica Chimica Acta*, 555(2), 238-241.
- Deborde, M. (2006). "Oxydation par le chlore et l'ozone de composés à effets modulateurs endocriniens." Université de Poitiers.

- Deborde, M., et von Gunten, U. (2008). "Reactions of chlorine with inorganic and organic compounds during water treatment--Kinetics and mechanisms: A critical review." *Water Research*, 42(1-2), 13-51.
- Deborde, M., Rabouan, S., Duguet, J., et Legube, B. (2005). "Kinetics of Aqueous Ozone-Induced Oxidation of Some Endocrine Disruptors." *Environmental Science & Technology*, 39(16), 6086-6092.
- Deborde, M., Rabouan, S., Gallard, H., et Legube, B. (2004). "Aqueous chlorination kinetics of some endocrine disruptors." *Environmental Science & Technology*, 38(21), 5577-5583.
- Deborde, M., Rabouan, S., Mazellier, P., Duguet, J., et Legube, B. (2008). "Oxidation of bisphenol A by ozone in aqueous solution." *Water Research*, 42(16), 4299-4308.
- Desbrow, C., Routledge, E., Brighty, G., Sumpter, J., et Waldock, M. (1998). "Identification of Estrogenic Chemicals in STW Effluent. 1. Chemical Fractionation and in Vitro Biological Screening." *Environmental Science & Technology*, 32(11), 1549-1558.
- Dubinini, M. M. (1979). "Microporous structures of carbonaceous adsorbents." *Characteristics of Porous Solids - Proceeding Symposium*, Meeting Date 1978, 1-11.
- Dudamel, W. (2005). "Modélisation et simulation de l'influence de la température lors de l'adsorption de micropolluants organiques par du charbon actif dans les eaux naturelles - Modelling and simulation of the temperature influence on the adsorption of organic micropollutants by activated carbon in natural waters." Université de Rennes 1.
- Ebie, K., Li, F., Azuma, Y., Yuasa, A., et Hagishita, T. (2001). "Pore distribution effect of activated carbon in adsorbing organic micropollutants from natural water." *Water Research*, 35(1), 167-179.
- "EUROPA - Environment - Endocrine disrupters - Strategy."
- Famiglini, G., Palma, P., Siviero, A., Rezai, M., et Cappiello, A. (2005). "Determination of Endocrine Disrupting Compounds in Marine Water by Nanoliquid Chromatography/Direct-Electron Ionization Mass Spectrometry." *Analytical Chemistry*, 77(23), 7654-7661.
- Fan, Y., Feng, Y., Shi, Z., et Wang, J. (2005). "Ordered mesoporous silica coated capillary for in-tube solid phase microextraction coupled to high performance liquid chromatography." *Analytica Chimica Acta*, 543(1-2), 1-8.
- Farré, M., Brix, R., Kuster, M., Rubio, F., Goda, Y., López de Alda, M. J., et Barceló, D. (2006). "Evaluation of commercial immunoassays for the detection of estrogens in water by comparison with high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry HPLC-MS/MS (QqQ)." *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 385(6), 1001-1011.
- Farré, M., Kuster, M., Brix, R., Rubio, F., Alda, M. L. D., et Barcelo, D. (2007). "Comparative study of an estradiol enzyme-linked immunosorbent assay kit, liquid chromatography-tandem mass spectrometry, and ultra performance liquid chromatography-quadrupole time of flight mass spectrometry for part-per-trillion analysis of estrogens in water samples." *Journal of Chromatography A*, 1160(1-2), 166-175.
- Fenske, M., van Aerle, R., Brack, S., Tyler, C. R., et Segner, H. (2001). "Development and validation of a homologous zebrafish (*Danio rerio* Hamilton-Buchanan) vitellogenin enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and its application for studies on estrogenic chemicals." *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 129(3), 217-232.

- Fountoulakis, M., Drillia, P., Pakou, C., Kampioti, A., Stamatelatou, K., et Lyberatos, G. (2005). "Analysis of nonylphenol and nonylphenol ethoxylates in sewage sludge by high performance liquid chromatography following microwave-assisted extraction." *Journal of Chromatography A*, 1089(1-2), 45-51.
- Freundlich, H. (1906). "Adsorption in solids." *Zeitschrift für Physikalische Chemie*, 57(385-470).
- Frick, B. R., et Sontheimer, H. (1983). "Adsorption equilibria in multisolute mixtures of known and unknown composition." *Advances in Chemistry Series*, 202, 247-268.
- Fromme, H., Kuchler, T., Otto, T., Pilz, K., Muller, J., et Wenzel, A. (2002). "Occurrence of phthalates and bisphenol A and F in the environment." *Water Research*, 36(6), 1429-1438.
- Fry, D., et Toone, C. (1981). "DDT-induced feminization of gull embryos." *Science*, 213(4510), 922-924.
- Fuerhacker, M., Dürauer, A., et Jungbauer, A. (2001). "Adsorption isotherms of 17[beta]-estradiol on granular activated carbon (GAC)." *Chemosphere*, 44(7), 1573-1579.
- Fukuhara, T., Iwasaki, S., Kawashima, M., Shinohara, O., et Abe, I. (2006). "Adsorbability of estrone and 17[beta]-estradiol in water onto activated carbon." *Water Research*, 40(2), 241-248.
- Gallard, H., Leclercq, A., et Croué, J. (2004). "Chlorination of bisphenol A: kinetics and by-products formation." *Chemosphere*, 56(5), 465-473.
- Ganguly, S. K., et Goswami, A. N. (1996). "Surface diffusion kinetics in the adsorption of acetic acid on activated carbon." *Separation Science and Technology*, 31(9), 1267-1278.
- Gervais, G., Brosillon, S., Laplanche, A., et Helen, C. (2008). "Ultra-pressure liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry for multiresidue determination of pesticides in water." *Journal of Chromatography A*, 1202(2), 163-172.
- Gibson, R., Tyler, C., et Hill, E. (2005). "Analytical methodology for the identification of estrogenic contaminants in fish bile." *Journal of Chromatography A*, 1066(1-2), 33-40.
- Gicquel, L. (1996). "Élimination par adsorption sur charbon actif de l'atrazine contenue dans les eaux à potabiliser : étude de la compétition avec les matières organiques et minérales dissoutes et modélisation." Université de Rennes 1.
- Gicquel, L., Wolbert, D., et Laplanche, A. (1997). "Adsorption of Atrazine by Powdered Activated Carbon: Influence of Dissolved Organic and Mineral Matter of Natural Waters Adsorption de L'atrazine Par Charbon Actif en Poudre: Influence des Matières Organiques et Minérales Dissoutes des Eaux Naturelles." *Environmental Technology*, 18(5), 467-478.
- Goldsby, R., Kindt, T., Osborne, B., et Kuby, J. (2002). *Immunology*. W.H. Freeman, New York.
- Gray, L. E., Kelce, W. R., Wiese, T., Tyl, R., Gaido, K., Cook, J., Klinefelter, G., Desaulniers, D., Wilson, E., Zacharewski, T., Waller, C., Foster, P., Laskey, J., Reel, J., Giesy, J., Laws, S., McLachlan, J., Breslin, W., Cooper, R., Di Giulio, R., Johnson, R., Purdy, R., Mihaich, E., Safe, S., Sonnenschein, C., Welshons, W., Miller, R., McMaster, S., et Colborn, T. (1997). "Endocrine screening methods workshop report: Detection of estrogenic and androgenic hormonal and antihormonal activity for chemicals that act via receptor or steroidogenic enzyme mechanisms." *Reproductive Toxicology*, 11(5), 719-750.

- Greene, E., Snoeyink, V. L., et Pooge, F. (1994). *Adsorption of pesticides on powdered activated carbon*. American Water Works Association R. F., Denver.
- Gros, M., Petrovic, M., et Barcelo, D. (2006). "Development of a multi-residue analytical methodology based on liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) for screening and trace level determination of pharmaceuticals in surface and wastewaters." *Talanta*, 70(4), 678-690.
- Hennion, M. (1999). "Solid-phase extraction: method development, sorbents, and coupling with liquid chromatography." *Journal of Chromatography A*, 856(1-2), 3-54.
- Hohenblum, P., Gans, O., Moche, W., Scharf, S., et Lorbeer, G. (2004). "Monitoring of selected estrogenic hormones and industrial chemicals in groundwaters and surface waters in Austria." *Science of The Total Environment*, 333(1-3), 185-193.
- Höhne, C., et Püttmann, W. (2008). "Occurrence and temporal variations of the xenoestrogens bisphenol A, 4- tert -octylphenol, and tech. 4-nonylphenol in two German wastewater treatment plants." *Environmental Science and Pollution Research*, 15(5), 405-416.
- Howell, W. M., Black, D. A., et Botone, S. (1980). "Abnormal expression of secondary sex characters in a population of mosquitofish, *Gambusia affinis holbrooki*: evidence for environmentally-induced masculinization." *Copeia*, 4, 676-681.
- Howell, W. M., et Denton, T. E. (1989). "Gonopodial morphogenesis in female mosquitofish, *Gambusia affinis affinis*, masculinized by exposure to degradation products from plant sterols." *Environmental Biology of Fishes*, 24(1), 43-51.
- Hu, J. Y., Aizawa, T., et Ookubo, S. (2002). "Products of aqueous chlorination of bisphenol A and their estrogenic activity." *Environmental Science and Technology*, 36(9), 1980-1987.
- Huber, M. M., Ternes, T. A., et von Gunten, U. (2004). "Removal of Estrogenic Activity and Formation of Oxidation Products during Ozonation of 17 $\alpha$ -Ethinylestradiol." *Environmental Science & Technology*, 38(19), 5177-5186.
- Hubert, P., Nguyen-Huu, J., Boulanger, B., Chapuzet, E., Chiap, P., Cohen, N., Compagnon, P., Dewé, W., Feinberg, M., Lallier, M., Laurentie, M., Mercier, N., Muzard, G., Nivet, C., Valat, L., et Rozet, E. (2007). "Harmonization of strategies for the validation of quantitative analytical procedures: A SFSTP proposal - Part II." *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 45(1), 70-81.
- Hubert, P., Nguyen-Huu, J., Boulanger, B., Chapuzet, E., Chiap, P., Cohen, N., Compagnon, P., Dewé, W., Feinberg, M., Lallier, M., Laurentie, M., Mercier, N., Muzard, G., Nivet, C., et Valat, L. (2004). "Harmonization of strategies for the validation of quantitative analytical procedures: A SFSTP proposal-part I." *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 36(3), 579-586.
- Hubert, P., Nguyen-Huu, J., Boulanger, B., Chapuzet, E., Cohen, N., Compagnon, P., Dewé, W., Feinberg, M., Laurentie, M., Mercier, N., Muzard, G., Valat, L., et Rozet, E. (2007). "Harmonization of strategies for the validation of quantitative analytical procedures: A SFSTP proposal-Part III." *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 45(1), 82-96.
- Hubert, P., Nguyen-Huu, J., Boulanger, B., Chapuzet, E., Cohen, N., Compagnon, P., Dewé, W., Feinberg, M., Laurentie, M., Mercier, N., Muzard, G., Valat, L., et Rozet, E. (2008). "Harmonization of strategies for the validation of quantitative analytical procedures: A SFSTP proposal: Part IV. Examples of application." *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 48(3), 760-771.

- Incedy, J., Lengyel, T., et Ure, A. M. (1997). "Presentation of results of chemical analysis." *Compendium of Analytical Nomenclature*.
- Irving, H., Freiser, H., et West, T. (1978). *Compendium of Analytical Nomenclature*.
- Isidori, M., Lavorgna, M., Nardelli, A., et Parrella, A. (2006). "Toxicity on crustaceans and endocrine disrupting activity on *Saccharomyces cerevisiae* of eight alkylphenols." *Chemosphere*, 64(1), 135-143.
- Jiang, H., et Adams, C. (2006). "Treatability of chloro-s-triazines by conventional drinking water treatment technologies." *Water Research*, 40(8), 1657-1667.
- Jobling, S., Sheahan, D., Osborne, J. A., Matthiessen, P., et Sumpter, J. P. (1996). "Inhibition of testicular growth in Rainbow trout (*Oncorhynchus Mykiss*) exposed to estrogenic alkylphenolic chemicals." *Environmental Toxicology and Chemistry*, 15(2), 194.
- Johnson, A., et Williams, R. (2004). "A model to estimate influent and effluent concentrations of estradiol, estrone, and ethinylestradiol at sewage treatment works." *Environmental Science and Technology*, 38(13), 3649-3658.
- Jones, P. A., Baker, V. A., Irwin, A., et Earl, L. K. (1997). "Modulation of MCF-7 cell proliferative responses by manipulation of assay conditions." *Toxicology in Vitro*, 11(6), 769-773.
- Jones, P. A., Baker, V. A., Irwin, A. J. E., et Earl, L. K. (1998). "Interpretation of the In Vitro Proliferation Response of MCF-7 Cells to Potential Oestrogens and Non-Oestrogenic Substances." *Toxicology in Vitro*, 12(4), 373-382.
- Jouët, J. (2009). *Evaluation de la capacité d'extrapolation aux très basses concentrations des modèles d'équilibre et de cinétique d'adsorption en compétition : cas d'un perturbateur endocrinien dans une eau naturelle*. Rapport de Mater Recherche, Université de Rennes 1.
- Jugan, M., Oziol, L., Bimbot, M., Huteau, V., Tamisier-Karolak, S., Blondeau, J., et Lévi, Y. (2009). "In vitro assessment of thyroid and estrogenic endocrine disruptors in wastewater treatment plants, rivers and drinking water supplies in the greater Paris area (France)." *Science of The Total Environment*, 407(11), 3579-3587.
- Kampioti, A. A., Borba da Cunha, A. C., López de Alda, M., et Barceló, D. (2005). "Fully automated multianalyte determination of different classes of pesticides, at picogram per litre levels in water, by on-line solid-phase extraction-liquid chromatography-electrospray-tandem mass spectrometry." *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 382(8), 1815-1825.
- Kapoor, A., Yang, R. T., et Wong, C. (1989). "Surface Diffusion." *Catalysis Reviews: Science and Engineering*, 31(1), 129.
- King, R., Bonfiglio, R., Fernandez-Metzler, C., Miller-Stein, C., et Olah, T. (2000). "Mechanistic investigation of ionization suppression in electrospray ionization." *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 11(11), 942-950.
- Knappe, D., Matsui, Y., Snoeyink, V., Roche, P., Prados, M., et Bourbigot, M. (1998). "Predicting the Capacity of Powdered Activated Carbon for Trace Organic Compounds in Natural Waters." *Environmental Science & Technology*, 32(11), 1694-1698.
- Knappe, D., Snoeyink, V., Prados, M., Bourbigot, M., et Dagois, G. (1993). "Adsorption of atrazine by powdered activated carbon." Annual Conference, American Water Works Association.

- Knappe, D., Snoeyink, V., Roche, P., Prados, M., et Bourbigot, M. (1997). "The effect of preloading on rapid small-scale column test predictions of atrazine removal by GAC adsorbers." *Water Research*, 31(11), 2899-2909.
- Kuch, H., et Ballschmiter, K. (2001). "Determination of Endocrine-Disrupting Phenolic Compounds and Estrogens in Surface and Drinking Water by HRGC-(NCI)-MS in the Picogram per Liter Range." *Environmental Science & Technology*, 35(15), 3201-3206.
- Lagana, A., Bacaloni, A., De Leva, I., Faberi, A., Fago, G., et Marino, A. (2004). "Analytical methodologies for determining the occurrence of endocrine disrupting chemicals in sewage treatment plants and natural waters." *Analytica Chimica Acta*, 501(1), 79-88.
- Lakowicz, J. R. (2006). *Principles of fluorescence spectroscopy*. Springer.
- Langmuir, I. J. (1915). "Modelisation of adsorption." *Physical Reviews*, 6, 79-80.
- Le Cloirec, P. (1998). *Les Composés Organiques Volatils dans l'environnement - Volatile Organics Compound in the environment*. Lavoisier Ed.
- Lebeau, T., Lelièvre, C., Wolbert, D., Laplanche, A., Prados, M., et Côté, P. (1999). "Effect of natural organic matter loading on the atrazine adsorption capacity of an aging powdered activated carbon slurry." *Water Research*, 33(7), 1695-1705.
- Lee, H., Peart, T., Chan, J., et Gris, G. (2004). "Occurrence of Endocrine-Disrupting Chemicals in Sewage and Sludge Samples in Toronto, Canada." *Water Quality Research Journal of Canada*, 39(1), 57-63.
- Lee, H., Peart, T. E., Bennie, D. T., et Maguire, R. J. (1997). "Determination of nonylphenol polyethoxylates and their carboxylic acid metabolites in sewage treatment plant sludge by supercritical carbon dioxide extraction." *Journal of Chromatography A*, 785(1-2), 385-394.
- Leroy, G., et Manciot, F. (2006). "Perturbateurs endocriniens: outils analytiques et applications environnementales." *Techniques Sciences Méthodes*, (12), 53-59.
- Loyo-Rosales, J., Schmitz-Afonso, I., Rice, C., et Torrents, A. (2003). "Analysis of Octyl- and Nonylphenol and Their Ethoxylates in Water and Sediments by Liquid Chromatography/Tandem Mass Spectrometry." *Analytical Chemistry*, 75(18), 4811-4817.
- Lye, C. M., Frid, C. L. J., et Gill, M. E. (1998). "Seasonal reproductive health of flounder *Platichthys flesus* exposed to sewage effluent." *Marine Ecology Progress Series*, 170, 249-260.
- Lye, C. M., Frid, C. L. J., Gill, M. E., Cooper, D. W., et Jones, D. M. (1999). "Estrogenic Alkylphenols in Fish Tissues, Sediments, and Waters from the U.K. Tyne and Tees Estuaries." *Environmental Science & Technology*, 33(7), 1009-1014.
- Lye, C. M., Frid, C. L. J., Gill, M. E., et McCormick, D. (1997). "Abnormalities in the reproductive health of flounder *Platichthys flesus* exposed to effluent from a sewage treatment works." *Marine Pollution Bulletin*, 34(1), 34-41.
- Maki, H., Okamura, H., Aoyama, I., et Fujita, M. (1998). "Halogenation and toxicity of the biodegradation products of a non-ionic surfactant, nonylphenol ethoxylate." *Environmental Toxicology and Chemistry*, 17, 650-654.
- Markham, E. C., et Benton, A. F. (1931). "The adsorption of fas mixtures by silica." *Journal of the American Chemical Society*, 53(2), 497-507.
- Masschelein, W. (1996). *Processus unitaires du traitement de l'eau potable*. Liège.



- Matsui, Y., Fukuda, Y., Inoue, T., et Matsushita, T. (2003). "Effect of natural organic matter on powdered activated carbon adsorption of trace contaminants: characteristics and mechanism of competitive adsorption." *Water Research*, 37(18), 4413-4424.
- Matuszewski, B. K., Constanzer, M. L., et Chavez-Eng, C. M. (1998). "Matrix Effect in Quantitative LC/MS/MS Analyses of Biological Fluids: A Method for Determination of Finasteride in Human Plasma at Picogram Per Milliliter Concentrations." *Analytical Chemistry*, 70(5), 882-889.
- Matuszewski, B. K., Constanzer, M. L., et Chavez-Eng, C. M. (2003). "Strategies for the Assessment of Matrix Effect in Quantitative Bioanalytical Methods Based on HPLC-MS/MS." *Analytical Chemistry*, 75(13), 3019-3030.
- McKay, G. (2001). "Solution to the homogeneous surface diffusion model for batch adsorption systems using orthogonal collocation." *Chemical Engineering Journal*, 81(1-3), 213-221.
- McKay, G., Bino, M. J., et Altememi, A. (1986). "External mass transfer during the adsorption of various pollutants onto activated carbon." *Water Research*, 20(4), 435-442.
- Metcalfé, C. D., Metcalfe, T. L., Kiparissis, Y., Koenig, B. G., Khan, C., Hughes, R. J., Croley, T. R., March, R. E., et Potter, T. (2001). "Estrogenic potency of chemicals detected in sewage treatment plant effluents as determined by in vivo assays with Japanese medaka (*Oryzias latipes*)." *Environmental Toxicology and Chemistry*, 20(2), 297.
- Mitani, K., Narimatsu, S., Izushi, F., et Kataoka, H. (2003). "Simple and rapid analysis of endocrine disruptors in liquid medicines and intravenous injection solutions by automated in-tube solid-phase microextraction/high performance liquid chromatography." *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 32(3), 469-478.
- Miyabe, K., et Suzuki, M. (1994). "Mass transfer phenomena on the surface of adsorbents in reversed-phase chromatography." *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 33, 1792-1802.
- Mocarelli, P., Brambilla, P., Gerthoux, P. M., Jr, D. G. P., et Needham, L. L. (1996). "Change in sex ratio with exposure to dioxin." *The Lancet*, 348(9024), 409.
- Murillo, R., García, T., Aylón, E., Callén, M. S., Navarro, M. V., López, J. M., et Mastral, A. M. (2004). "Adsorption of phenanthrene on activated carbons: Breakthrough curve modeling." *Carbon*, 42(10), 2009-2017.
- Myers, A. L., et Prausnitz, J. M. (1965). "Thermodynamics of mixed-gas adsorption." *AIChE Journal*, 11(1), 121-127.
- Naassner, M., Mergler, M., Wolf, K., et Schuphan, I. (2002). "Determination of the xenoestrogens 4-nonylphenol and bisphenol A by high-performance liquid chromatography and fluorescence detection after derivatisation with dansyl chloride." *Journal of Chromatography A*, 945(1-2), 133-138.
- Najm, I., Snoeyink, V., et Richard, Y. (1991). "Effect of initial concentration of SOC in natural water on its adsorption by activated carbon." *Journal of American Water Works Association*, 83(8), 57-63.
- Newcombe, G., Morrison, J., Hepplewhite, C., et Knappe, D. R. U. (2002). "Simultaneous adsorption of MIB and NOM onto activated carbon: II. Competitive effects." *Carbon*, 40(12), 2147-2156.

- Nguyen, D. T., Guillarme, D., Rudaz, S., et Veuthey, J. (2006). "Fast analysis in liquid chromatography using small particle size and high pressure." *Journal of Separation Science*, 29(12), 1836-1848.
- Nieszporek, K., et Rudzinski, W. (2002). "On the enthalpic effects accompanying the mixed-gas adsorption on heterogeneous solid surfaces: a theoretical description based on the integral equation approach." *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 196(1), 51-61.
- Noll, K. E., Gounaris, V., et Hou, W. (1992). *Adsorption technology for air and water pollution control / Kenneth E. Noll, Vassilios Gounaris, Wain-sun Hou*. Lewis Publishers, Chelsea, Mi.
- Ouchi, K., et Watanabe, S. (2002). "Measurement of bisphenol A in human urine using liquid chromatography with multi-channel coulometric electrochemical detection." *Journal of Chromatography B*, 780(2), 365-370.
- Petersen, G., Rasmussen, D., et Gustavson, K. (2007). *Study on enhancing the Endocrine Disrupter priority list with a focus on low production volume chemicals*.
- Petersen, G. I., Madsen, T. H., Holbech, H., et Norrgren, L. (2001). *Partial life cycle test - evaluation of a 40-day juvenile zebrafish (Danio rerio) assay*. TemaNord report 597, Nordic Concil of Ministers.
- Petrovic, M., Diaz, A., Ventura, F., et Barcelo, D. (2001). "Simultaneous Determination of Halogenated Derivatives of Alkylphenol Ethoxylates and Their Metabolites in Sludges, River Sediments, and Surface, Drinking, and Wastewaters by Liquid Chromatography-Mass Spectrometry." *Analytical Chemistry*, 73(24), 5886-5895.
- Petrovic, M., Gros, M., et Barcelo, D. (2006). "Multi-residue analysis of pharmaceuticals in wastewater by ultra-performance liquid chromatography-quadrupole-time-of-flight mass spectrometry." *Journal of Chromatography A*, 1124(1-2), 68-81.
- "PNRPE - Ministère de l'Ecologie, de l'Energie, du Développement durable et de la Mer." (pas de date). <<http://www.ecologie.gouv.fr/-PNRPE-.html>> (Août. 7, 2009).
- Pojana, G., Gomiero, A., Jonkers, N., et Marcomini, A. (2007). "Natural and synthetic endocrine disrupting compounds (EDCs) in water, sediment and biota of a coastal lagoon." *Environment International*, 33(7), 929-936.
- Prados, M., Roche, P., Dagois, G., et Philipot, J. M. (1994). "Removal of atrazine by adsorption on activated carbon: modeling of the process." *Techniques Sciences Méthodes*, 7(8), 427-429.
- Purdom, C. E., Hardiman, P. A., Bye, V. V. J., Eno, N. C., Tyler, C. R., et Sumpter, J. P. (1994). "Estrogenic Effects of Effluents from Sewage Treatment Works." *Chemistry and Ecology*, 8(4), 275-285.
- Qi, S., Adham, S. S., Snoeyink, V. L., et Lykins, B. W. (1994). "Prediction and verification of atrazine adsorption by PAC." *Journal of Environmental Engineering*, 12(1), 202-218.
- Radke, C. J., et Prausnitz, J. M. (1972). "Adsorption of Organic Solutes from Dilute Aqueous Solution of Activated Carbon." *Industrial & Engineering Chemistry Fundamentals*, 11(4), 445-451.
- Randtke, S. J., et Jepsen, C. P. (1982). "Effects of salts on activated carbon adsorption of fulvic acid." *Journal of American Water Works Association*, 74(2), 84-93.

- Randtke, S. J., et Snoeyink, V. L. (1983). "Evaluating GAC adsorptive capacity." *Journal of American Water Works Association*, 75(8), 406-413.
- Regan, F., Moran, A., Fogarty, B., et Dempsey, E. (2002). "Development of comparative methods using gas chromatography-mass spectrometry and capillary electrophoresis for determination of endocrine disrupting chemicals in bio-solids." *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 770(1-2), 243-253.
- Richardson, S. (2007). "Water Analysis: Emerging Contaminants and Current Issues." *Analytical Chemistry*, 79(12), 4295-4324.
- Rodriguez-Mozaz, S., Lopez de Alda, M., et Barcelo, D. (2004). "Picogram per Liter Level Determination of Estrogens in Natural Waters and Waterworks by a Fully Automated On-Line Solid-Phase Extraction-Liquid Chromatography-Electrospray Tandem Mass Spectrometry Method." *Analytical Chemistry*, 76(23), 6998-7006.
- Rodriguez-Mozaz, S., Lopez de Alda, M. J., et Barcelo, D. (2004). "Monitoring of estrogens, pesticides and bisphenol A in natural waters and drinking water treatment plants by solid-phase extraction-liquid chromatography-mass spectrometry." *Journal of Chromatography A*, 1045(1-2), 85-92.
- Rogers, H. R. (1996). "Sources, behaviour and fate of organic contaminants during sewage treatment and in sewage sludges." *Science of The Total Environment*, 185(1-3), 3-26.
- Rose, J., Holbech, H., Lindholst, C., Norum, U., Povlsen, A., Korsgaard, B., et Bjerregaard, P. (2002). "Vitellogenin induction by 17[beta]-estradiol and 17[alpha]-ethinylestradiol in male zebrafish (*Danio rerio*)." *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 131(4), 531-539.
- Rosen, J. B. (1952). "Kinetics of a Fixed Bed System for Solid Diffusion into Spherical Particles." *The Journal of Chemical Physics*, 20(3), 387-394.
- Rosset, R., Caude, M., et Jardy, A. (1982). *Manuel pratique de chromatographie en phase liquide*. Masson, Paris.
- Routledge, E., Sheahan, D., Desbrow, C., Brighty, G., Waldock, M., et Sumpter, J. (1998). "Identification of Estrogenic Chemicals in STW Effluent. 2. In Vivo Responses in Trout and Roach." *Environmental Science & Technology*, 32(11), 1559-1565.
- Routledge, E. J., et Sumpter, J. P. (1997). "Structural Features of Alkylphenolic Chemicals Associated with Estrogenic Activity." *J. Biol. Chem.*, 272(6), 3280-3288.
- Roy, D., Wang, G., et Adrian, D. (1993). "A simplified solution technique for carbon adsorption model." *Water Research*, 27(6), 1033-1040.
- Rudel, R., Camann, D., Spengler, J., Korn, L., et Brody, J. (2003). "Phthalates, Alkylphenols, Pesticides, Polybrominated Diphenyl Ethers, and Other Endocrine-Disrupting Compounds in Indoor Air and Dust." *Environmental Science & Technology*, 37(20), 4543-4553.
- Sajiki, J., Takahashi, T., et Yonekubo, J. (1999). "Sensitive method for the determination of bisphenol-A in serum using two systems of high-performance liquid chromatography." *Journal of Chromatography B*, 736, 255-261.
- Sarafraz-Yazdi, A., et Es'haghi, Z. (2006). "Comparison of Hollow Fiber and Single-Drop Liquid-Phase Microextraction Techniques for HPLC Determination of Aniline Derivatives in Water." *Chromatographia*, 63(11), 563-569.

- Schrager, S., et Potter, B. (2004). "Diethylstilbestrol exposure." *American Family Physician*, 69(10), 2395-2400.
- Segner, H., Caroll, K., Fenske, M., Janssen, C. R., Maack, G., Pascoe, D., Schäfers, C., Vandenberg, G. F., Watts, M., et Wenzel, A. (2003). "Identification of endocrine-disrupting effects in aquatic vertebrates and invertebrates: report from the European IDEA project." *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 54(3), 302-314.
- Sheindorf, C., Rebhun, M., et Sheintuch, M. (1981). "A Freundlich-type multicomponent isotherm." *Journal of Colloid and Interface Science*, 79(1), 136-142.
- Silva, E., Rajapakse, N., et Kortenkamp, A. (2002). "Something from "Nothing" - Eight Weak Estrogenic Chemicals Combined at Concentrations below NOECs Produce Significant Mixture Effects." *Environmental Science & Technology*, 36(8), 1751-1756.
- Singer, P. C., et Yen, C. (1980). "Adsorption of alkyl phenols by activated carbon." *Activated carbon adsorption of organics from the aqueous phase*, Suffet and Mc Guire, Michigan, 167-189.
- Smith, E. H. (1991). "Modified solution of homogeneous surface diffusion model for adsorption." *Journal of Environmental Engineering*, 119(3), 320-338.
- Smith, E. H. (1994). "Bench-scale tests and modeling of adsorption of natural organic matter by activated carbon." *Water Research*, 28(8), 1693-1702.
- Snyder, S. A., Keith, T. L., Pierens, S. L., Snyder, E. M., et Giesy, J. P. (2001). "Bioconcentration of nonylphenol in fathead minnows (*Pimephales promelas*)." *Chemosphere*, 44(8), 1697-1702.
- Snyder, S. A., Keith, T. L., Verbrugge, D. A., Snyder, E. M., Gross, T. S., Kannan, K., et Giesy, J. P. (1999). "Analytical Methods for Detection of Selected Estrogenic Compounds in Aqueous Mixtures." *Environmental Science & Technology*, 33(16), 2814-2820.
- Sole, M., Lopez de Alda, M., Castillo, M., Porte, C., Ladegaard-Pedersen, K., et Barcelo, D. (2000). "Estrogenicity Determination in Sewage Treatment Plants and Surface Waters from the Catalanian Area (NE Spain)." *Environmental Science & Technology*, 34(24), 5076-5083.
- Soliman, M. A., Pedersen, J. A., et (Mel) Suffet, I. H. (2004). "Rapid gas chromatography-mass spectrometry screening method for human pharmaceuticals, hormones, antioxidants and plasticizers in water." *Journal of Chromatography A*, 1029(1-2), 223-237.
- Sorensen, L. (2006). "Determination of phthalates in milk and milk products by liquid chromatography/tandem mass spectrometry." *Rapid Communication in Mass Spectrometry*, 20(7), 1135-1143.
- Soto, A. M., Sonnenschein, C., Chung, K. L., Fernandez, M. F., Olea, N., et Serrano, F. O. (1995). "The E-SCREEN assay as a tool to identify estrogens: an update on estrogenic environmental pollutants." *Environmental health perspectives*, 103(S7), 113-22.
- SPSS. (2009). "Présentation du module PASW Regression du logiciel PASW Statistics 18."
- Stackelberg, P. E., Gibs, J., Furlong, E. T., Meyer, M. T., Zaugg, S. D., et Lippincott, R. L. (2007). "Efficiency of conventional drinking-water-treatment processes in removal of pharmaceuticals and other organic compounds." *Science of The Total Environment*, 377(2-3), 255-272.

- Stasinakis, A. S., Gatidou, G., Mamais, D., Thomaidis, N. S., et Lekkas, T. D. (2008). "Occurrence and fate of endocrine disrupters in Greek sewage treatment plants." *Water Research*, 42(6-7), 1796-1804.
- Stavarakakis, C. (2007). "Analyse et évolution des perturbateurs endocriniens an épuratin et traitement des eaux." Université de Nantes.
- Tan, B. L., Hawker, D. W., Muller, J. F., Leusch, F. D., Tremblay, L. A., et Chapman, H. F. (2007). "Comprehensive study of endocrine disrupting compounds using grab and passive sampling at selected wastewater treatment plants in South East Queensland, Australia." *Environment International*, 33(5), 654-669.
- Ternes, T. A., Stumpf, M., Mueller, J., Haberer, K., Wilken, R. -, et Servos, M. (1999). "Behavior and occurrence of estrogens in municipal sewage treatment plants – I. Investigations in Germany, Canada and Brazil." *The Science of The Total Environment*, 225(1-2), 81-90.
- Ternes, T., Meisenheimer, M., McDowell, D., Sacher, F., Brauch, H., Haist-Gulde, B., Preuss, G., Wilme, U., et Zulei-Seibert, N. (2002). "Removal of Pharmaceuticals during Drinking Water Treatment." *Environmental Science & Technology*, 36(17), 3855-3863.
- Thompson, M., Ellison, S. L. R., et Wood, R. (2002). "Harmonized guidelines for single-laboratory validation of methods of analysis (IUPAC Technical Report)." *Pure and Applied Chemistry*, 74(5), 835-855.
- Tien, C. (1994). *Adsorption calculations and modeling*. Newton, MA.
- Traegner, U., et Suidan, M. (1989a). "Evaluation of surface and film diffusion coefficients for carbon adsorption.." *Water Research*, 23(3), 267-273.
- Traegner, U., et Suidan, M. (1989b). "Parameter evaluation for carbon adsorption." *Journal of Environmental Engineering*, 115(1), 109-128.
- Traegner, U., et Suidan, M. (1991). "Steady state performance of activated carbon contactors." *Water Science and Technology*, 23(7-9), 1677-1686.
- Trenholm, R. A., Vanderford, B. J., Holady, J. C., Rexing, D. J., et Snyder, S. A. (2006). "Broad range analysis of endocrine disruptors and pharmaceuticals using gas chromatography and liquid chromatography tandem mass spectrometry." *Chemosphere*, 65(11), 1990-1998.
- Van De Steene, J. C., et Lambert, W. E. (2008). "Comparison of Matrix Effects in HPLC-MS/MS and UPLC-MS/MS Analysis of Nine Basic Pharmaceuticals in Surface Waters." *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 19(5), 713-718.
- Van den Belt, K., Verheyen, R., et Witters, H. (2003). "Comparison of vitellogenin responses in zebrafish and rainbow trout following exposure to environmental estrogens." *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 56(2), 271-281.
- Van Der Kraak, G., Zacharewski, T., Janz, D., Sanders, B., et Gooch, J. (1998). "Comparative Endocrinology and mechanisms of endocrine podulation in fish and wildlife." *Principles and processes for evaluating endocrine disruption in wildlife*, Pensacola Fl.
- Vanderford, B., Pearson, R., Rexing, D., et Snyder, S. (2003). "Analysis of Endocrine Disruptors, Pharmaceuticals, and Personal Care Products in Water Using Liquid Chromatography/Tandem Mass Spectrometry." *Analytical Chemistry*, 75(22), 6265-6274.

- Veeraraghavan, S., Fan, L. T., et Mathews, A. P. (1989). "Modeling adsorption in liquid-solid fluidized beds." *Chemical Engineering Science*, 44(10), 2333-2345.
- Vial, J., et Jardy, A. (1999). "Experimental Comparison of the Different Approaches To Estimate LOD and LOQ of an HPLC Method." *Analytical Chemistry*, 71(14), 2672-2677.
- Viganò, L., Arillo, A., Bottero, S., Massari, A., et Mandich, A. (2001). "First observation of intersex cyprinids in the Po River (Italy)." *The Science of The Total Environment*, 269(1-3), 189-194.
- Voigtman, E. (2008a). "Limits of detection and decision. Part 3." *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 63(2), 142-153.
- Voigtman, E. (2008b). "Limits of detection and decision. Part 2." *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 63(2), 129-141.
- Voigtman, E. (2008c). "Limits of detection and decision. Part 1." *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 63(2), 115-128.
- Wakao, N., et Funazkri, T. (1978). "Effect of fluid dispersion coefficients on particle-to-fluid mass transfer coefficients in packed beds : Correlation of sherwood numbers." *Chemical Engineering Science*, 33(10), 1375-1384.
- Walker, G. M., et Weatherley, L. R. (1999). "Kinetics of acid dye adsorption on GAC." *Water Research*, 33(8), 1895-1899.
- Wang, R., Kuo, C., et Shyu, C. (1997). "Adsorption of phenols onto granular activated carbon in a liquid-solid fluidized bed." *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 68(2), 187-194.
- Wang, R., et Yang, J. J. (1997). "Competitive adsorption of bisolute phenols onto granular activated carbon." *Journal of the Chinese Institute of Chemical Engineers*, 28(3), 185-195.
- Wang, R., et Chang, S. (1999). "Adsorption/desorption of phenols onto granular activated carbon in a liquid-solid fluidized bed." *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 74(7), 647-654.
- Weber, W. J., et Smith, E. H. (1987). "Simulation and design models for adsorption processes." *Environmental Science & Technology*, 21(11), 1040-1050.
- Westerhoff, P., Yoon, Y., Snyder, S., et Wert, E. (2005). "Fate of Endocrine-Disruptor, Pharmaceutical, and Personal Care Product Chemicals during Simulated Drinking Water Treatment Processes." *Environmental Science & Technology*, 39(17), 6649-6663.
- Xia, K., et Jeong, C. Y. (2004). "Photodegradation of the Endocrine-Disrupting Chemical 4-Nonylphenol in Biosolids Applied to Soil." *Journal of Environmental Quality*, 33(4), 1568-1574.
- Xue, N., Xu, X., et Jin, Z. (2005). "Screening 31 endocrine-disrupting pesticides in water and surface sediment samples from Beijing Guanting reservoir." *Chemosphere*, 61(11), 1594-1606.
- Yamamoto, T., et Yasuhara, A. (2002). "Chlorination of bisphenol A in aqueous media: formation of chlorinated bisphenol A congeners and degradation to chlorinated phenolic compounds." *Chemosphere*, 46(8), 1215-1223.
- Yen, C., et Singer, P. (1984). "Competitive Adsorption of Phenols on Activated Carbon." *Journal of Environmental Engineering*, 110(5), 976-989.

- Ying, G., Kookana, R. S., et Dillon, P. (2003). "Sorption and degradation of selected five endocrine disrupting chemicals in aquifer material." *Water Research*, 37(15), 3785-3791.
- Yoon, Y., Westerhoff, P., Snyder, S., Song, R., et Levine, B. (2002). "A review on removal of endocrine-disrupting compounds and pharmaceuticals by drinking water treatment processes."
- Yoon, Y., Westerhoff, P., Snyder, S. A., et Esparza, M. (2003). "HPLC-fluorescence detection and adsorption of bisphenol A, 17[beta]-estradiol, and 17[alpha]-ethynyl estradiol on powdered activated carbon." *Water Research*, 37(14), 3530-3537.
- Yoon, Y., Westerhoff, P., Snyder, S. A., Wert, E. C., et Yoon, J. (2007). "Removal of endocrine disrupting compounds and pharmaceuticals by nanofiltration and ultrafiltration membranes." *Desalination*, 202(1-3), 16-23.
- Yu, Z., Peldszus, S., et Huck, P. M. (2007). "Optimizing gas chromatographic-mass spectrometric analysis of selected pharmaceuticals and endocrine-disrupting substances in water using factorial experimental design." *Journal of Chromatography A*, 1148(1), 65-77.
- Yu, Z., Peldszus, S., et Huck, P. M. (2008). "Adsorption characteristics of selected pharmaceuticals and an endocrine disrupting compound--Naproxen, carbamazepine and nonylphenol on activated carbon." *Water Research*, 42(12), 2873-2882.
- Yu, Z., Peldszus, S., et Huck, P. M. (2009a). "Adsorption of Selected Pharmaceuticals and an Endocrine Disrupting Compound by Granular Activated Carbon. 1. Adsorption Capacity and Kinetics." *Environmental Science & Technology*, 43(5), 1467-1473.
- Yu, Z., Peldszus, S., et Huck, P. M. (2009b). "Adsorption of Selected Pharmaceuticals and an Endocrine Disrupting Compound by Granular Activated Carbon. 2. Model Prediction." *Environmental Science & Technology*, 43(5), 1474-1479.
- Zacharewski, T. (1997). "In Vitro Bioassays for Assessing Estrogenic Substances." *Environmental Science & Technology*, 31(3), 613-623.
- Zeng, G., Zhang, C., Huang, G., Yu, J., Wang, Q., Li, J., Xi, B., et Liu, H. (2006). "Adsorption behavior of bisphenol A on sediments in Xiangjiang River, Central-south China." *Chemosphere*, 65(9), 1490-1499.
- Zwiener, C., et Richardson, S. D. (2005). "Analysis of disinfection by-products in drinking water by LC-MS and related MS techniques." *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 24(7), 613-621.

# ANNEXES





## ANNEXES

### Annexes II.1

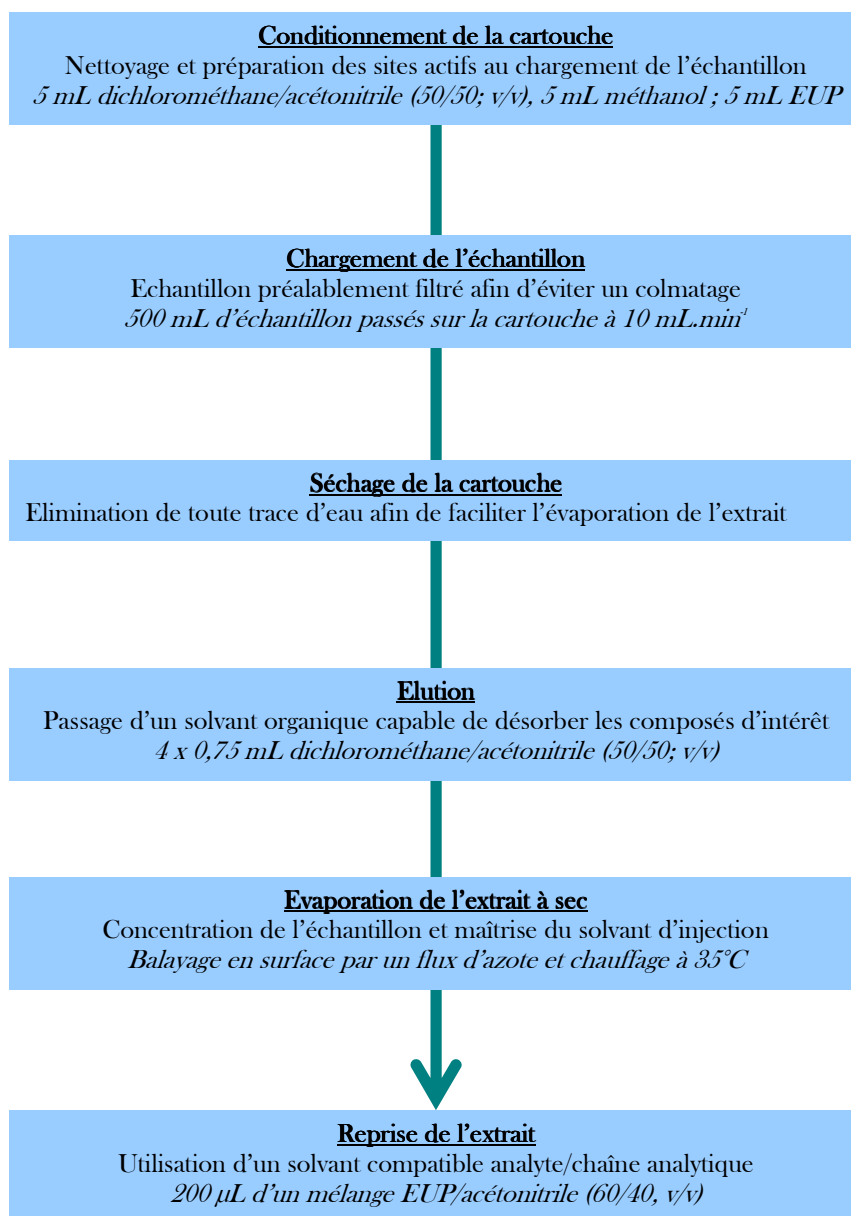


Figure A.II.1.1. Déroulement des étapes de l'extraction sur phase solide pour la cartouche HLB de Waters

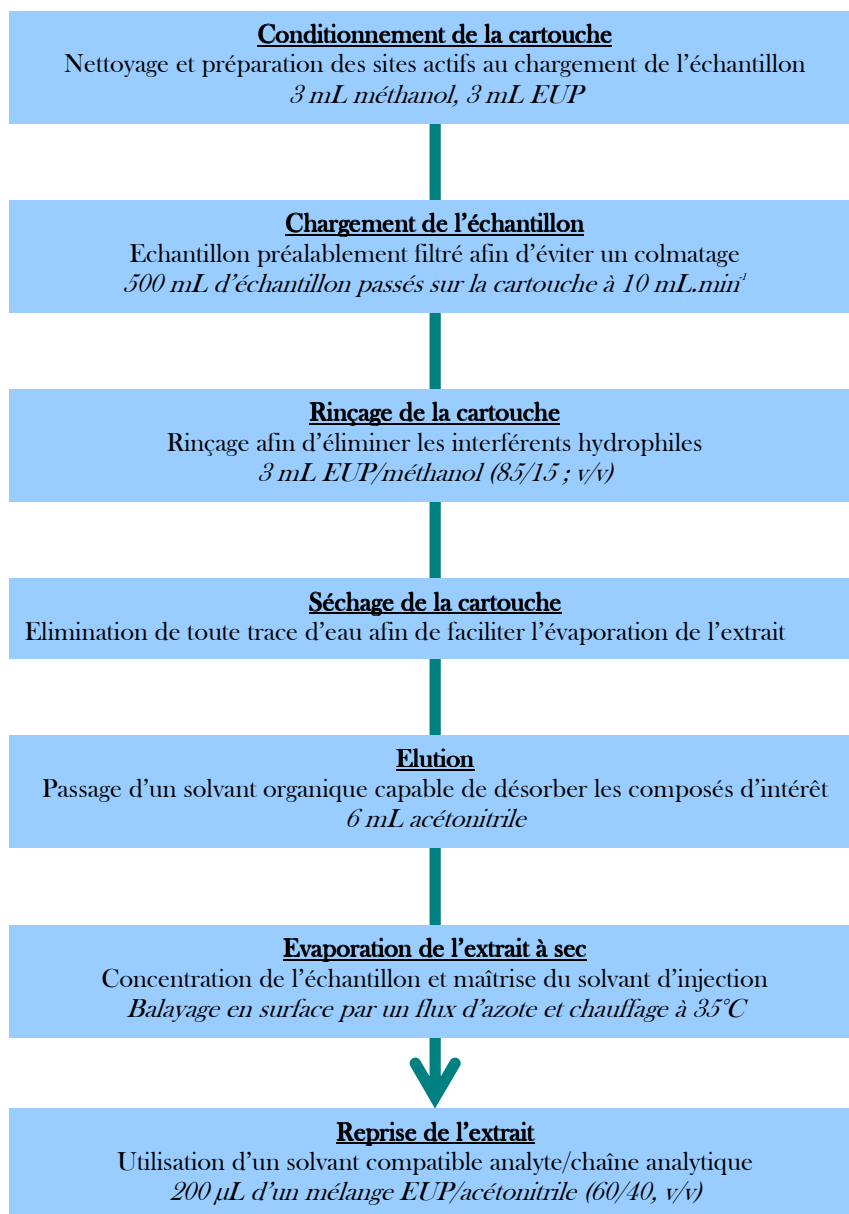


Figure A.II.1.2 Déroulement des étapes de l'extraction sur phase solide pour la cartouche Strata X de Phenomenex

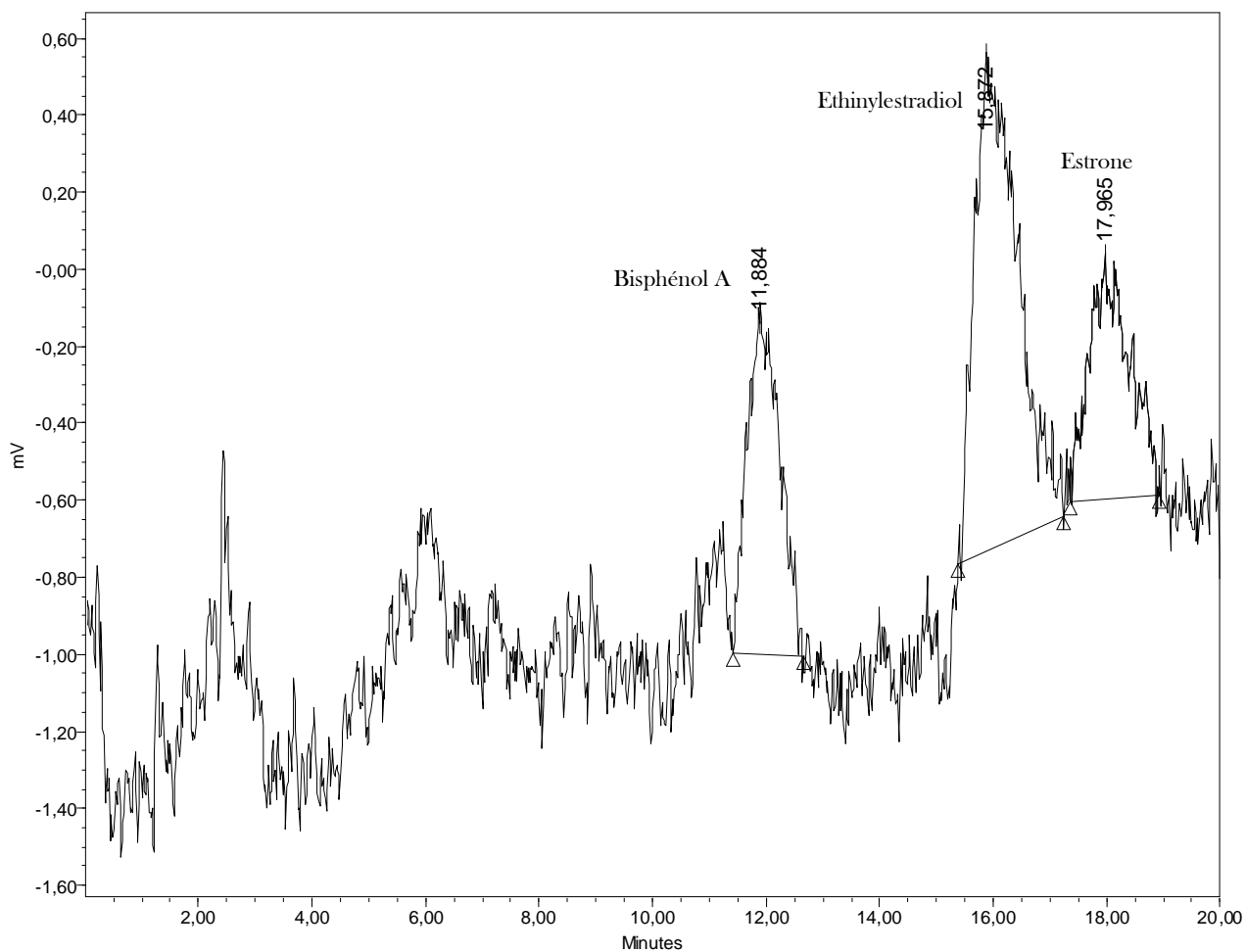
**Annexes II.2**

Figure A.II.2.1 Chromatogramme d'une solution étalon d'un mélange de bisphénol A, d'éthinylestradiol à  $5 \mu\text{g.L}^{-1}$  et d'estrone à  $100 \mu\text{g.L}^{-1}$



## PRODUCTION SCIENTIFIQUE

En date du 21 Janvier 2009, les communications scientifiques liées à ce travail sont :

### Publication dans des revues internationales avec comité de lecture

**Assoumani, A.; Favier-Teodorescu, L.; Wolbert, D.** Adsorption kinetics and isotherm characteristics of selected endocrine disrupting compounds on activated carbon in natural waters  
*Water Science and Technology : Water Supply* **9**, 51-58 (2009)

### Publication dans des revues nationales avec comité de lecture

**Favier-Teodorescu, L.; Assoumani, A.; Wolbert, D.** Capacités d'extrapolation aux basses concentrations des modèles d'équilibres et de cinétiques d'adsorption compétitive des perturbateurs endocriniens sur charbon actif. *Récents Progrès en Génie des Procédés*, sous presse (2009)

### Communication dans des actes de congrès internationaux avec comité de lecture sur texte complet

**Assoumani, A.; Favier-Teodorescu, L.; Wolbert, D.** Modelling of adsorption and kinetics of endocrine disrupting compounds onto activated carbon in natural waters. Proceedings of *Carbon'09, The Annual World Conference on Carbon*. Biarritz, France. 14-19 Juin 2009

### Communication dans des actes de congrès francophones avec comité de lecture sur texte complet

**Favier-Teodorescu, L.; Assoumani, A.; Wolbert, D.** Evaluation de la capacité d'extrapolation aux très basses concentrations des modèles d'équilibre d'adsorption en compétition des perturbateurs endocriniens sur charbon actif. Acte de congrès de *GRUTTEE 2009, 8<sup>e</sup> Congrès international*. Nancy, France. 24-26 Octobre 2009

Communication orale dans des congrès internationaux avec actes (textes complets)

**Assoumani, A.; Favier-Teodorescu, L.; Wolbert, D.** Adsorption kinetics and isotherm characteristics of selected endocrine disrupting compounds on activated carbon in natural waters. *IWA Chemical Industries 2009 International Conference*. Beijing, Chine. 9-11 Novembre 2008

Communication orale dans des congrès francophones avec actes (textes complets)

**Favier-Teodorescu, L.; Assoumani, A.; Wolbert, D.** Evaluation de la capacité d'extrapolation aux très basses concentrations des modèles d'équilibre d'adsorption en compétition des perturbateurs endocriniens sur charbon actif. *8<sup>e</sup> Congrès international du GRUTTEE 2009*. Nancy, France. 24-26 Octobre 2009

Communication par affiche dans des congrès internationaux avec actes (textes complets)

**Assoumani, A.; Favier-Teodorescu, L.; Wolbert, D.** Modelling of adsorption and kinetics of endocrine disrupting compounds onto activated carbon in natural waters. *Carbon '09, The annual world conference on carbon*. Biarritz, France. 14-19 Juin, 2009

Communication par affiche dans des congrès nationaux avec actes (textes complets)

**Favier-Teodorescu, L.; Assoumani, A.; Wolbert, D.** Capacités d'extrapolation aux basses concentrations des modèles d'équilibres et des cinétiques d'adsorption compétitive des perturbateurs endocriniens sur charbon actif. *SFGP 2009, XIIème Congrès de la Société Française de Génie des Procédés*. Marseille, France. 14-16 Octobre 2009

Communication par affiche dans des congrès internationaux (résumés)

**Assoumani, A.; Favier-Teodorescu, L.; Wolbert, D.** Comparison of ultra performance liquid chromatography-electrospray ionisation-tandem mass spectrometry and liquid chromatography-fluorescence detection for part-per-trillion determination of endocrine disrupting compounds in water samples. *HPLC 2009, 34th International Symposium on High-Performance Liquid Phase Separations and Related Techniques*. Dresden, Germany. 28 Juin - 2 Juillet 2009

- Parmi les 30 affiches sélectionnées sur 620 pour le prix du meilleur poster